COLUMBIA LIBRARIES OFFSITE
HEALTH SCIENCES STANDARD
HX64140024
QP514 .K932 Chemische untersuchu
RECAP

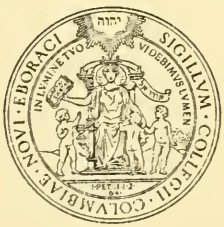
Krukenberg

QP514 K932

Columbia University
in the City of New York

College of Physicians and Surgeons

Library



Digitized by the Internet Archive
in 2010 with funding from
Open Knowledge Commons (for the Medical Heritage Library project)

http://www.archive.org/details/chemischeuntersu00kruk

Chemische Untersuchungen

zur

wissenschaftlichen Medicin.

Von

Dr. C. Fr. W. Krukenberg,
a. o. Professor an der Universität zu Jena.

Erstes Heft.

COLUMBIA UNIVERSITY
DEPARTMENT OF PHYSIOLOGY
COLLEGE OF PHYSICIANS AND SURGEONS
437 WEST FIFTY NINTH STREET
NEW YORK

Jena,
Verlag von Gustav Fischer.
1886.

From Cutter collection
QP514
K932

Inhalt.

	Seite
Ueber das Zustandekommen der sogenannten Eiweissreactionen.	1
Die Beziehungen der Eiweissstoffe zu den albuminoïden Substanzen und den Kohlehydraten	12
Untersuchungen über den chemischen Bau der Eiweissstoffe. (Erste Mittheilung)	28
Zur Beurtheilung des Nährwerthes der sogenannten Leube-Rosenthal'schen Fleischsolution	50
Kritische Bemerkungen über neuere Peptonpräparate des Handels.	57
Zur Charakteristik einiger physiologisch und klinisch wichtigeren Farbenreactionen. (Zweite Abhandlung). Mit Spectraltafel.	74

JAN 8 1945

Über das Zustandekommen der sogenannten Eiweissreactionen.

Die Eiweissnachweise scheiden sich naturgemäss in zwei Gruppen: in die Farbenreactionen und in die Fällungsnachweise. Letztere Kategorie zerfällt in zwei Unterabtheilungen: in die directen Fällungsmethoden, bei denen die Eiweisskörper als solche niedergeschlagen werden, und in die indirecten Fällungsmethoden (sog. Alkaloïdreactionen), bei welchen eine schwer lösliche Verbindung geschaffen wird. Obschon die sog. indirecten Fällungen wegen des zusammengesetzteren Molecüls der dabei entstehenden Verbindung, theoretisch betrachtet, die empfindlichsten Nachweise abgeben müssen, so sind in letzterer Zeit doch die directen Niederschlagsmethoden die bevorzugteren geworden; denn diese bieten unter anderen Vortheilen vornehmlich den, bei Ausführung an den Lösungen verschiedener Albuminstoffe direct vergleichbar zu sein, während die indirecten Fällungsmethoden und ebenso die Farbenreactionen keinen Vergleich in der angegebenen Richtung ohne Weiteres gestatten. Das Zustandekommen der Farbenreactionen hängt ab von der Anwesenheit bestimmter Atomcomplexe, deren Existenz zwar bei jedem echten Eiweissstoffe gewahrt zu sein scheint, bei deren Ausfall der Kern der Verbindung jedoch keineswegs verändert zu sein braucht. Dass nicht auch bei vielen indirecten Fällungsmethoden die Existenz bestimmter Seitenketten wesentlich in Betracht kommt, wird erst noch zu beweisen sein.

Abgesehen von ihrer zweifelhaften practischen Bedeutung wird den sog. Eiweissreactionen jeder wissenschaftliche Werth so lange abgesprochen werden müssen, bis klargestellt ist, welche Atomgruppen für ihr Zustandekommen unbedingt erforderlich sind und durch sie indicirt werden. Zur Entscheidung dieser Fragen erschien mir die Untersuchung besonders solcher Substanzen dringend ge-

boten, welche von den echten Eiweissstoffen in ihren Zersetzungsproducten oder in ihrer elementaren Zusammensetzung mehr oder weniger erheblich abweichen, mehrere Reactionen jedoch mit ihnen theilen. Stoffe dieser Art sind die Albuminoïde und die Glieder der von mir jüngst[1]) abgegrenzten Gruppe der Skeletine. Die Repräsentanten beider Classen zeichnen sich nun leider aber durch eine Unlöslichkeit für Wasser aus, und vielen derselben ist auch eine grosse Resistenz gegenüber den proteolytischen Enzymen eigen so dass nur die Farbenreactionen der Eiweisskörper zu einer vergleichenden Prüfung im angegebenen Sinne Verwendung finden konnten. Hier zeigte sich nun aber auf's Schlagendste, dass die einzelnen Farbenreactionen der Eiweisskörper völlig inadäquater Natur und schliesslich auch wohl wenig belangreich sind für den Nachweis einer Constanz des Kernes im Eiweissmolecül, indem sie meist nur Annexe, d. h. dem Stammkern angelagerte Atomgruppen betreffen, und deshalb das Eintreten der einen Reaction keineswegs das Fehlschlagen einer anderen von vornherein ausschliesst.

Die Erfahrungen über das Eintreten der **Millon'schen Reaction** scheinen mir den Schluss zu gestatten, dass dieselbe an einen Atomcomplex gebunden ist, der direct oder indirect als Tyrosin abgespalten werden kann. Entgegen dem Bedenken Drechsel's[2]), das von Erlenmeyer und Schöffer[3]) beim Kochen von Elastin mit verdünnter Schwefelsäure erhaltene Tyrosin möge nicht dem Elastin, sondern einer Beimengung entstammen, muss ich darauf hinweisen, dass bisher noch alle Untersucher (so auch W. Müller) Tyrosin als Zersetzungsproduct des Elastins beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure haben auftreten sehen, und dass ich diese Angaben an möglichst rein erhaltenem Materiale aus dem Nackenbande vom Ochsen nur bestätigt fand. Ist Elastin, welches die Millon'sche Reaction giebt, thatsächlich frei von Schwefel, so kann die Tyrosinbildung nicht unabänderlich an die Gegenwart einer schwefelhaltigen Gruppe im Molecül geknüpft sein. Übrigens denken wir uns die Verhältnisse nicht so wie Liebig der die Eiweisskörper und gewisse Albuminoïde als gepaarte Verbindungen betrachtete, welche als Paarlinge unter anderm auch

1) Grundzüge einer vgl. Physiologie der thierischen Gerüstsubstanzen. Heidelberg. 1885. S. 195 u. 215.

2) Drechsel, Chemie der Absonderungen und Gewebe. Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. 5. Th. 1. S. 603.

3) Erlenmeyer und A. Schöffer, Journ. f. pract. Chemie. Bd. 80. 1860. S. 357—359.

Tyrosin enthalten, sondern wir lassen als Paarling derselben nur eine oder mehrere Tyrosin bildende Gruppen zu.

Diesem Verhalten entsprechend, charakterisirt die Millon'sche Reaction die Tyrosin liefernden Eiweissstoffe, Albuminate, Proteïde, Albuminoïde (Keratin, Elastoïdin [1]), Elastin) und Skeletine (Fibroïn), während sämmtliche Glieder dieser Classen, welche weder bei den Fäulnissvorgängen noch beim Kochen mit verdünnten Säuren Tyrosin als Zersetzungsproduct liefern (Collagen; Conchiolin, Spongin, Chitin), die Millon'sche Reaction nicht zeigen. Gegenwärtig hat diese Regel nur noch eine einzige Ausnahme zuzulassen: Corneïn [2]) nämlich, welches mit verdünnten Säuren und siedendem Wasser, stundenlang mit siedender concentrirter Kalilauge behandelt und tagelang der abwechselnden Einwirkung von kräftiger Pepsinsalzsäure und alkalischer Trypsinlösung bei 38° *C.* ausgesetzt gewesen ist, giebt stets noch die Millon'sche Reaction, und so sehr man auch geneigt sein könnte, in den bei der Reaction sich ganz circumscript stärker röthenden Stellen der Corneïnstückchen den Beweis für eine eiweissartige Beimengung des Corneïns zu sehen, so lehrt doch die genaue mikroskopische Untersuchung, dass jene intensiver gefärbten Partieen nur derbere und fester struirte, demnach auch corneïnreichere sind als diejenigen, welche sich beim Kochen mit Millon's Reagens weit schwächer röthen. Aus Corneïn ist bekanntlich aber kein Tyrosin zu erhalten gewesen; beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zerfällt es in Leucin und Cornikrystallin. Zwei Möglichkeiten sind hier indess noch immer zuzulassen: 1) liefert das Corneïn vielleicht doch Tyrosin, denn so sicher scheint mir durch die bisher ausgeführten Untersuchungen dessen Abwesenheit unter den Spaltungsproducten noch keineswegs verbürgt zu sein, und 2) könnte ja das unentzifferte Cornikrystallin eine complicirter zusammengesetzte Vorstufe des Tyrosins sein.

Hand in Hand gehend mit einem stärkeren oder schwächeren Ausfall sämmtlicher übrigen Eiweissreactionen, bietet die Millon'sche Probe quantitative Unterschiede nur bei den Hyalogenen (Spirographin und sog. Hyalin der Echinococcusblasen) dar; diese

1) Vergl. Krukenberg, Über die chem. Beschaffenheit der sog. Hornfäden von Mustelus und über die Zusammensetzung der keratinösen Hüllen um den Eiern von Scyllium stellare. Mitth. a. d. zoolog. Station zu Neapel. Bd. 6. 1885. S. 286—296.

2) Vergl. Krukenberg, Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 17. 1884. S. 1843.

liegen darin begründet, dass die Hyalogene in den Geweben weitere Veränderungen durchmachten, ihren Eiweisscharakter dabei mehr und mehr einbüssten, um schliesslich vielleicht in echte Hyaline oder Hyalinverbindungen überzugehen.[1])

1) Wäre von mir („Die Hyaline". Würzburg 1883.) am Spirographin auch nicht der specielle Nachweis erbracht, dass die Hyalogene sich bei den einzelnen Proben gleich den Eiweisskörpern verhalten, ohne einen eiweissartigen Rest zu hinterlassen, in Hyaline übergegangen, dagegen auf die einzelnen Eiweissproben nicht mehr reagiren, so würden die quantitativen Schwankungen im Ausfall der Albuminreactionen an verschieden alten Echinococcusblasen allein schon darauf hinweisen, dass es sich bei diesem Hyalogene ebensowenig wie beim Spirographin um ein Proteïd (im gewöhnlichen Wortsinne) handelt. Wiederholt sah ich die Eiweissreactionen an Echinococcusblasen ausnehmend schwach ausfallen, aber auch alsdann nicht nach tagelanger Pepsineinwirkung (wodurch albuminöse Beimengungen doch so leicht den unverdaulichen Hyalogenen zu entziehen sind) verschwinden. Trotz des schwachen Ausfalls der Eiweissreactionen hatte das Hyalogen in diesen Fällen seine Unlöslichkeit für Wasser beibehalten, was beweist, dass sein unterschiedliches Verhalten von den Hyalinen nicht in der Verbindung mit einem eiweissartigen Paarlinge, von dem hier doch so gut wie nichts vorhanden war, begründet liegt. Dass, wie Hammarsten (Pflüger's Archiv. Bd. 36. 1885. S. 449) anzunehmen geneigt ist, Proteïde, als deren einer Paarling ein Hyalogen resp. Hyalin, als deren anderer ein Albuminkörper fungirt, vorkommen können, habe ich niemals in Abrede gestellt, sondern bei Besprechung des sog. Chondrogens (Chondrin und Chondroïtsäure. Sep.-Abdr. a. d. Sitzungsb. d. Würzburger physik.-med. Gesellschaft. 1884. S. 4.) selbst hervorgehoben; wichtig ist für mich jedoch, dass Hyalogene reinster Form, wie solche im Spirographin und im sog. Hyalin der Echinococcusblasen vorliegen, nicht proteïder Natur sind. Dass deren Unlöslichkeit für Wasser auch nicht auf einer Doppelverbindung mit Mineralbestandtheilen beruht, wie Schmiedeberg (Mittheil. a. d. zoolog. Station zu Neapel. Bd. 3. 1882. S. 387) für's Onuphin entwickelte, hätten schon Lücke's Analysen (Virchow's Archiv Bd. 19. 1860. S. 189) alter Echinococcusblasen lehren können, denen gemäss diese nur 0,29 % anorganische Stoffe enthalten. Die Unhaltbarkeit von Schmiedeberg's sowie von Landwehr's ursprünglicher, bereits von Giacosa (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7. 1882. S. 52) angegriffener Auffassung, dass die Hyalogene nur Gemische von Eiweisskörpern und Hyalinen resp. reinen Kohlehydraten seien, würde schon ein einfacher Lösungsversuch an der unveränderten Substanz darzuthun geeignet gewesen sein, und nicht weniger unzutreffend erweist sich in ihrer Allgemeinheit die zuerst von Giacosa geäusserte, später auch von Landwehr (Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 9. 1885. S. 366) und für das Glykoproteïd auch von Hammarsten vertretene Ansicht, dass es sich bei den Hyalogenen resp. Hyalinen um die chemische Verbindung von einem

Einen beschränkteren Verbreitungskreis als die Millon'sche Probe besitzt die **Adamkiewicz'sche Reaction** sowie die **Kochprobe mit Salzsäure.** Eine allgemeinere Regel für das Eintreten und Nichteintreten beider Reactionen lässt sich zur Zeit noch nicht aufstellen. Gewisse Wasser abspaltende Processe, welche die Eiweisskörper in Elastine oder in Keratine verwandeln, rauben jenen die Fähigkeit, auf beide Proben zu reagiren oder setzen ihre Reactionsfähigkeit wenigstens sehr herab. Beide Reactionen können unter Umständen quantitativ sehr verschieden ausfallen, und zwar an Präparaten, die durch Eiweissstoffe in keiner Weise verunreinigt sind; diese Erscheinungen beruhen einerseits darauf, dass unter der Bezeichnung Elastin, Keratin und Collagen Substanzen verschiedener Entwicklungsphasen einbegriffen werden müssen, dass altes Elastin oder altes Collagen nicht das nämliche ist als frisch angebildetes; andererseits finden derartige Differenzen aber auch darin ihre Erklärung, dass von den chromophoren Gruppen, von welchen die echten Eiweissstoffe eine grössere Anzahl in ihrem Riesenmolecül enthalten, in den betreffenden Eiweissderivaten vielleicht nur noch zwei oder gar nur noch eine sich erhalten hat. So erklärt es sich, wenn Keratin beim Kochen mit concentrirter, roher Salzsäure in dem einen Falle eine schwach violettrothe Färbung der Säure ertheilt, in einem anderen dagegen diese Farbenreaction ausbleibt, oder wenn Fibroïn und Keratin bei Anstellung der Adamkiewicz'schen Probe nur zu Beginn des Kochens eine leichte Violettfärbung erkennen lassen, indem die Flüssigkeiten bei fortgesetztem Sieden ihre Farbe nicht in Purpurroth, sondern in ein unansehnliches Braungelb verändern. Sowohl bei der Kochprobe mit Salzsäure wie auch bei der Adamkiewicz'schen Reaction kommt viel auf die Ausführung selbst an; ersteren Nachweis führe ich stets mit concentrirter, roher Salzsäure aus und setze das Kochen mit der zu prüfenden Substanz 5 Minuten lang über freier Flamme fort, die Eiweissprobe nach Adamkiewicz stelle ich schon seit Jahren ähnlich wie Hammarsten[1]) an. Die im Folgenden mitgetheilten Resultate sind unter genauer Beachtung dieser Vor-

---

Kohlehydrate mit einer Globulinsubstanz handele. Wenn so einfach die Dinge lägen, wie würden dann die doch auch von Hammarsten (a. a. O., S. 397 und 398) erkannten intermediären stickstoffhaltigen Producte, welche mir keine Eiweissreactionen zeigten, überhaupt nur entstehen können!

1) O. Hammarsten, Arch. f. d. gesammte Physiol. Bd. 36, 1885. S. 389. Anm. 1.

schriften gewonnen, und speciell diejenigen, welche auf der Adamkiewicz'schen Reaction basiren, unter strenger Einhaltung der Hammarsten'schen Modification. Übrigens sind die aus den eiweissartigen Materien entstehenden farbigen Producte weder beim Verfahren nach Adamkiewicz, noch beim Kochen mit Salzsäure[1]) allemal die nämlichen. Betreffs letzterer Reaction habe ich in einer anderen Abhandlung[2]) einige Beispiele angeführt, und was die bei der Adamkiewicz'schen Probe auftretenden violetten resp. purpurnen Farbentöne anbelangt, so sei nur darauf hingewiesen, dass die beiden Absorptionsstreifen, welche das Spectrum der Flüssigkeit nach einiger Zeit darbietet, nicht in allen Proben gleich orientirt sind; bei Beginn der Reaction zeigt sich ein breites Band zwischen D und E, dem sich bald ein zweiter, nach ca. 24 Stunden zu gleicher Ausdehnung angewachsener Streifen etwa zwischen b und F hinzugesellt, welcher von Adamkiewicz[3]) allein gesehen wurde.

Sämmtliche Eiweissstoffe, die Albuminate (mit Einschluss der echten Albumosen und der echten Peptone) und gewiss auch alle Proteïde[4]) zeigen die Adamkiewicz'sche Reaction ausgesprochen scharf; Andeutungen derselben findet man fernerhin bei Keratinen (z. B. aus Kuhhorn dargestellt) und beim Fibroïn, während Conchiolin, Corneïn, Spongin, Elastoïdin, die reinen Collagene mit ihren Spaltungsproducten (den sog. Leimpeptonen) und die Elastine sich und die Flüssigkeit dabei nur gelb oder braungelb färben. Einen leichten rosa Anflug nimmt beim Kochen mit Eisessig und Schwefelsäure auch das Chitin an, bevor es sich löst.

Die Salzsäurereaction gelingt an einigen Substanzen, an welchen der Nachweis von Adamkiewicz versagt oder wenigstens unzuverlässig bleibt. So nimmt concentrirte, rohe Salzsäure beim Kochen und Eindampfen (am besten auf dem Wasserbade) mit Fibroïn eine prachtvoll blauviolette Färbung an, und auch am Elastin (aus dem Nackenbande vom Ochsen) wie am Elastoïdin stellt sich eine Violett- oder Purpurfärbung mit voller Deutlich-

---

1) Das Spectrum der Reaction ist dargestellt und näher beschrieben in meinem Aufsatze „Zur Charakteristik einiger physiologisch und klinisch wichtigeren Farbenreactionen". Würzburg. 1884.

2) Krukenberg, Fortgesetzte Untersuchungen über die Skeletine. Zeitschrift für Biologie. Bd. 22. 1885.

3) A. Adamkiewicz, Arch. f. exp. Pathologie und Pharmak. Bd. 3. 1875. S. 419.

4) Caseïn giebt die Reaction gut.

keit ein, wenn schon dieselbe bei den letzten beiden Substanzen länger auf sich warten lässt; unsicher bleibt das Resultat bei den Keratinen. Zugleich färben sämmtliche Stoffe, welche die Adamkiewicz'sche Reaction geben, auch die siedende Salzsäure in der für die Eiweisskörper charakteristischen Weise. Beim Erhitzen mit Corneïn, Conchiolin, Spongin oder Chitin nimmt concentrirte, rohe Salzsäure nur eine gelbe, später eine bräunliche Farbe an, obschon, wie wir sahen, das Corneïn durch Millon's Reagens bei Siedetemperatur geröthet wird.

Die **Xanthoproteïnreaction** erstreckt sich ausser auf die Eiweissstoffe, die Albuminate, Proteïde und Albuminoïde auf das Fibroïn und Corneïn unter den Skeletinen, während die gelben oder bräunlich gelben Salpetersäurelösungen von Spongin wie Conchiolin nach dem Ammoniakzusatze gelb bleiben, niemals sich auch nur in's Bräunliche verfärben. Beim Lösen von Corneïn in concentrirter Salpetersäure ist die starke Entwicklung von Stickstoffdioxyd bemerkenswerth.

Der Ausfall der **Biuretprobe** ist bei den einzelnen, in Betracht kommenden Stoffen insofern Wechseln unterworfen, als es zum Entstehen der Purpurfärbung bald eines stärkern Erhitzens der zu prüfenden Substanz (Harnstoff) oder eines längern Erwärmens mit der Lauge (Conchiolin) bedarf, bald dagegen ein einmaliges Aufkochen der fertig gestellten Probe (Albuminstoffe) oder allein schon ein Mischen mit der Lauge und dem Kupfersulfat bei gewöhnlicher Temperatur (Albumosen und Peptone) zur Hervorrufung der Färbung ausreicht. Diese Differenzen beweisen, dass die sich durch Kupfervitriol bei alkalischer Reaction röthenden löslichen Producte nur in den Albumosen und Peptonen als solche vorgebildet sind, aus den Eiweisskörpern im engern Sinne, den Albuminoïden und Skeletinen dagegen erst unter der Einwirkung der Lauge mehr oder weniger leicht hervorgehen. Die Skeletine bieten in dieser Beziehung eine vollständige Skala dar, indem die zum Eintreten der Biuretprobe erforderliche Transformation beim Fibroïn schon in der Kälte rasch erfolgt, schwieriger beim Spongin und erst nach anhaltendem Kochen oder erst bei Anwendung einer concentrirteren Lauge auch das Conchiolin wie Corneïn ergreift. Reines Chitin geht nach stundenlangem Kochen mit verdünnter Natronlauge niemals Zersetzungen ein, welche zu Producten führen, die sich mit Kupfervitriol röthen; eher entstehen bei dieser Operation Körper, welche auf die Kupferverbindung beim Kochen reducirend wirken.

Ganz abgesehen vom Verhalten des eigentlichen Biurets (als Zersetzungsproduct des Harnstoffs) bei der Probe, zeigt der positive Ausfall derselben am Conchiolin wie am Spongin, dass dieser unabhängig ist von der Gegenwart echter Albumosen und echter Peptone; denn die löslichen Producte, welche jene beiden Skeletine bei den verschiedenartigsten Umsetzungen liefern, reagiren weder auf die Xanthoproteïn- noch auf die Millon'sche Probe und können deshalb unmöglich den echten Albumosen oder Peptonen zugezählt werden; ebenso verhält es sich mit dem Collagen, dessen albumose- und peptonartigen Zersetzungsproducte, Hofmeister's Semiglutin und Hemicollin, zwar durch Natronlauge und Kupfersulfat purpurn gefärbt werden, sich aber beim Kochen mit Millon's Reagens nicht röthen. Die gegentheilige Angabe von Hofmeister[1]), dergemäss Semiglutin durch Millon's Reagens schwach rosa gefärbt wird, hat ihren Grund in einer Verunreinigung seines Präparates durch echte Albumosen oder durch echte Peptone.

Nencki's Untersuchungen[2]) ergaben für das Glutin, Waelchli's Untersuchungen[3]) für das Elastin, dass aus diesen Stoffen bei der Fäulniss weder Indol noch Phenol gebildet wird. Stillschweigend scheint von diesen Autoren angenommen zu werden, dass, hinsichtlich der **Indolabspaltung,** Schmelzen mit Ätzkali dem Fäulnissvorgange gleichzustellen ist, und dass einer Indolbildung nur diejenigen albuminoïden Körper fähig sind, welche bei der Fäulniss oder beim Kochen mit verdünnten Säuren neben Leucin auch Tyrosin und von flüchtigen Fettsäuren vorwiegend Buttersäure neben Valeriansäure, nicht fast nur Essigsäure bilden. Nach meinen Erfahrungen bestehen indess bezüglich der Indolbildung zwischen den Producten, welche durch schmelzendes Kali erhalten werden, und denen, welche Kochen mit verdünnten Säuren oder Fäulnissprocesse entstehen lassen, erhebliche Abweichungen, und ich stehe nicht an, die Zersetzung durch Fäulniss und die Zersetzung durch Schmelzen mit Kali als zwei ganz inadäquate Proceduren zu betrachten. Speciell die Skeletine (gleichgültig, ob sie beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure neben Leucin nur

---

1) Hofmeister, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 2. 1878. S. 306.

2) Nencki, Über die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas. Bern. 1876.

3) G. Waelchli, Journ. f. pract. Chemie. N. F. Bd. 17. 1878. S. 71.

Glykocoll oder auch Tyrosin geben) liefern in's Gesammt, mit Kali geschmolzen, unzweifelhaft Indol, d. h. wenn wir unter dieser Bezeichnung die chemisch gewiss nahe verwandten Stoffe verstehen, welche durch den penetranten, sog. Indolgeruch, durch das Auftreten einer kirschrothen Färbung auf Zusatz von salpetriger Salpetersäure oder beim Einlegen eines mit Salzsäure getränkten Fichtenspahns charakterisirt sind. Nach subtilster Reinigung, nach stunden- (Corneïn, Conchiolin) oder tagelang (Chitin) unterhaltenem Auskochen mit mehrfach erneuerten Portionen concentrirter Kalilauge und 20stündigem Erhitzen mit Wasser auf 170—200° *C.* im zugeschmolzenen Glasrohre (Corneïn, Conchiolin, Fibroïn), Chitin selbst nach dem Fällen der salzsauren Lösung durch Wasserzusatz, lieferten diese Stoffe mit Kali geschmolzen regelmässig ein stark indolhaltiges Destillat; die Mittheilungen, in denen nur eines spurenweisen Auftretens von Indol unter den Zersetzungsproducten der Skeletine durch schmelzendes Kali gedacht wird, beruhen durchgängig auf einer nicht lange genug unterhaltenen Destillation und auf einem Zurückbleiben des Indols in der Schmelze. Besonders für's Chitin ist mir dieser Befund lange Zeit sehr zweifelhaft gewesen und wurde von mir auch früher [1]) auf Beimengungen bezogen. Wiederholungen meiner bereits 1881 angestellten Versuche bestätigten indess die Constanz der Indolbildung, und die Reinigungsweise des dazu verwendeten Chitins verbürgt mir jetzt, dass sich aus diesem ebenso wie aus den übrigen Skeletinen beim Schmelzen mit Kali regelmässig Indol abspaltet. Beim Schmelzen von Aetzkali mit Chitin constatirte Ledderhose [2]) unter den Zersetzungsproducten nur die Anwesenheit von Essigsäure und Buttersäure, Sundwik [3]) fügte beiden Säuren noch die Oxalsäure hinzu, auf Indol scheinen aber auch diese beiden Untersucher nicht geprüft zu haben. Völlig unverständlich würde es sein, wenn bei diesem Sachverhalte durch die Einwirkung schmelzenden Kalis weder aus Elastin, noch aus Collagen Indol zu gewinnen wäre. Mag es nun theilweise auch darauf beruhen, dass zum Eintreten der einen oder anderen Eiweissreaction ein Schwefelgehalt der Substanz unerlässlich, für die Bildung des Indols aber nicht er-

1) Krukenberg, Vgl.-physiologische Studien. II. Reihe. I. Abth. Heidelberg. 1882. S. 60.

2) Ledderhose, Zeitschr. f. physiolog. Chemie. Bd. 2. 1878. S. 218.

3) Sundwik, ibid. Bd. 5. 1881. S. 388.

forderlich ist, oder auch darin seinen Grund haben, dass die Indolnachweise weit empfindlicher als manche Eiweissproben sind, so steht doch so viel fest, dass kein einziger der in Anwendung gebrachten Eiweissnachweise den Verbreitungskreis aufzuweisen hat, welcher den durch die Indolabspaltung ermöglichten Reactionen zukommt. Selbst die Xanthoproteïnreaction, welche, wie wir sahen, am Conchiolin, Spongin und Chitin ausbleibt, steht dem Indolbildungsvermögen in ihrer allgemeinen Verbreitung nach.

Unlösliche eiweissartige Gewebsbestandtheile können durch immerhin geringfügige Eingriffe (z. B. durch schwache electrische Ströme) hyalinisiren, d. h. für Wasser und für die Gewebssäfte löslich werden; in der Chondroïtsäure kennen wir eine Substanz, die durch kurze Aufbewahrung im lufttrockenen Zustande ihre Fällbarkeit durch Essigsäure, die für das frische Präparat eine quantitative ist, vollkommen einbüsst, und zahlreiche Albumin- und Nichtalbuminstoffe verlieren bekanntlich durch ein längeres Verweilen in fester Form ihre Löslichkeit; doch nur eine Substanz ist bislang bekannt geworden, welche in fester Secretform abgeschieden (also den Lebenseinflüssen entzogen) einer weitern, uns noch ganz räthselhaften Metamorphose unterliegt, in Folge deren sie des Vermögens, durch Pepsinsalzsäure verdaubar zu sein, verlustig geht und in einen völlig unverdaulichen Körper umgewandelt wird. Dieses ist die keratinogene Materie, deren Transformation von mir am Schalenkeratin der Selachiereier verfolgt wurde und welche, in ihrer Vollständigkeit zwar noch ganz vereinzelt dastehende Beobachtung Angaben anderer Forscher jedoch auf die Gesammtzahl der Keratine zu verallgemeinern gestatten.

Ohne einen Zusammenhang zwischen dem Unverdaulichwerden des Schalenkeratins für Pepsinsalzsäure und seiner Zersetzungsweise durch verdünnte Schwefelsäure zu ahnen, hatte ich schon vor mehreren Jahren gefunden [1]), dass die unverdaulich gewordenen Schalen der bereits abgelegten Selachiereier nicht, wie die peptisch verdaubaren Hüllen der intrauterinen Eier, mit verdünnter Schwefelsäure gekocht, reichlich Leucin neben Spuren von Tyrosin, sondern umgekehrt viel Tyrosin und nur wenig Leucin liefern, sich demnach wie veritabeles Keratin verhalten. Diese Beobachtung veranlasste mich, das **Verhalten** der einzelnen Albuminoïde und Skeletine **zu den proteolytischen Enzymen,** mit specieller Rück-

1) Krukenberg, Vgl.-physiolog. Studien. II. Reihe. I. Abth. 1882. S. 64.

sicht auf ihre Zersetzungsproducte noch einmal näher zu studiren. Die Untersuchungen haben jedoch nicht den gewünschten Erfolg gehabt; es ergab sich nämlich, dass unter den völlig unverdaulichen Skeletinen sich sowohl solche finden, welche (wie Spongin und Conchiolin) durch siedende Schwefelsäure zersetzt, keine nachweisbare Mengen von Tyrosin liefern, sondern hauptsächlich nur Leucin oder Glycin, als auch solche (Fibroïn), bei welchen Tyrosin neben Leucin reichlich unter den Spaltungsproducten erscheint. In beiden Classen der unverdaulichen Skeletine und Albuminoïde finden sich ferner auch Repräsentanten, welche durch überhitztes Wasser vollständig (Spongin) oder bis auf höchst geringe Reste (Keratine) gelöst werden, und mit alleiniger Ausnahme des Chitins sind schliesslich auch Albuminoïde wie Skeletine einer Albumosen- und Peptonbildung fähig, wennschon es bei einigen derselben aus selbstverständlichen Gründen nur zur Entstehung von sog. Leimpeptonen kommen kann.

Liegt der Grund für das Unverdaulichwerden von Substanzen auch nicht so offen zu Tage, als es anfangs scheinen konnte, so wird doch noch immer dabei an chemische Veränderungen im Molecül gedacht werden müssen, denn dass rein texturelle Verdichtungen daran die Schuld tragen, wie von einigen Pathologen angenommen ist[1]), wird kaum denkbar sein; jedenfalls sind es aber wenig in die Augen springende chemische Wechsel, welche aus einem verdaulichen Körper einen unverdaulichen werden lassen, und auch die Frage verdient wohl eingehender discutirt zu werden, ob enzymatisch schwer angreifbare, lebende Gewebe nicht gerade durch Processe entgegengesetzter Art in leichter verdauliche todte verwandelt werden.

Jena, den 13. Juli 1885.

---

1) Vgl. z. B. v. Recklinghausen, Handbuch der allgem. Pathologie des Kreislaufs und der Ernährung. Stuttgart. 1883. S. 372 ff.

Die Beziehungen der Eiweissstoffe zu den albuminoïden Substanzen und den Kohlehydraten.

In seiner wichtigen Abhandlung über das Mucin und mucinähnliche Substanzen [1]) sagt Hammarsten (S. 449): „Ich halte die Entstehung von Kohlehydraten aus genuinen Eiweissstoffen im gewöhnlichen Sinne für wenig wahrscheinlich und betrachte als Muttersubstanzen der abgespaltenen Kohlehydrate zusammengesetztere Stoffe, Proteïde". Aus dieser Bemerkung ersehe ich, dass meine jetzigen Anschauungen über die Eiweisskörper von denjenigen Hammarsten's erheblich abweichen, und ich benutze diese Gelegenheit um so lieber dazu, meine diesbezüglichen Ansichten und die dieselben stützenden Untersuchungen hier mitzutheilen, als sich zeigt, dass eine Reihe von Forschern sich jetzt immer mehr den Anschauungen zuwendet, welche ich bereits 1883 [2]) ausgesprochen und an einem, zwar etwas abliegenden Objecte begründet zu haben glaube.

Ich habe schon früher [3]) in kurzen Sätzen die Gründe geltend gemacht, welche auf's Bestimmteste gegen die Auffassung der sog. Mucine wie der Hyalogene sowohl als einfache Gemische von Eiweissstoffen und Kohlehydraten wie auch als Doppelverbindungen von Hyalinen mit anorganischen Salzen oder von Eiweisskörpern mit reinen Kohlehydraten sprechen, kann mir aber nicht versagen, nochmals auf eine Inconsequenz Hammarsten's aufmerksam zu machen. Auf S. 398 seiner oben citirten Ahhandlung theilt Hammarsten uns mit, dass ein Theil des Stickstoffs durch Alkali-

---

[1]) O. Hammarsten, Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 36. 1885. S. 373—456.

[2]) Krukenberg, Über die Hyaline. Würzburg. 1883.

[3]) Krukenberg, Über das Zustandekommen der sog. Eiweissreactionen. Sitzungsber. d. Jenaischen Gesellsch. f. Medic. u. Naturwiss. 1885. II.

einwirkung aus Mucin abgespalten werde, und dass bei Einwirkung von starker Alkalilauge diese Stickstoffabgabe so reichlich erfolge, dass die Probe recht stark nach Ammoniak rieche. Seine schönen Resultate ganz vergessend, bedauert er dagegen in einer besonderen Nachschrift, dass er Landwehr's neuere Meinung[1]), dergemäss das sog. Mucin eine „chemische Verbindung von einem reinen Kohlehydrate mit einer Globulinsubstanz" ist, im Texte seiner Abhandlung nicht mehr berücksichtigen konnte, da nunmehr zwischen ihm und Landwehr die „allerbeste Übereinstimmung in den Ansichten herrsche". Ich kann dazu nur bemerken, dass, wenn die Mucine nichts Anderes als eine chemische Verbindung von einem reinen Kohlehydrate mit einer Globulinsubstanz vorstellen würden, das Auftreten der doch auch von Hammarsten erkannten, von ihm aber nicht frei von Eiweissresten erhaltenen, intermediären, stickstoffhaltigen, den Hyalinen (Onuphin, Spirographidin) in ihren chemischen Eigenschaften durchaus entsprechenden Spaltungsprodukte, welche mir keine Eiweissreactionen zeigten, ganz unmöglich wäre. Die experimentellen Ergebnisse lassen demnach in den sog. Mucinen nur die Existenz einer kohlehydratliefernden, nicht einer Kohlehydrat-Gruppe selbst zu, obschon, vom theoretischen Standpunkte aus betrachtet, von beiden Möglichkeiten keine als die bevorzugtere erscheinen würde. Die Angaben von Landwehr, welche dafür zu sprechen schienen, dass die Mucine chemische Verbindungen seines thierischen Gummis mit einer Globulinsubstanz seien, beziehen sich sämmtlich auf Producte, die erst durch tiefgreifende Zersetzungen erhalten werden konnten und gerade in Betreff des Stickstoffgehaltes von Landwehr nicht sorgsam genug untersucht sind. Man vermisst in Landwehr's zahlreichen Abhandlungen zu sehr die bindenden, analytischen Beweise für das absolute Fehlen des Stickstoffs in seinem, aus den verschiedensten Organen und thierischen Fluidis gewonnenen, sog. thierischen Gummi (sein Achrooglykogen enthielt noch 0.4 % Schwefel und 8.7 % Stickstoff) und beim Knorpel, aus welchem er dasselbe gleichfalls erhalten haben will[2]), wird es zweifellos erst aus der Chondroïtsäure künstlich abgespalten sein. Vor allen Landwehr's unzutreffende Angaben für das Knorpelgewebe, welche

---

[1]) Landwehr, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 9. 1885. S. 366.

[2]) Landwehr, a. a. O., S. 367.

ich zu beurtheilen mich vielleicht für berechtigt halten kann, haben mich vorsichtig gemacht, seinen Behauptungen weiterhin so zu folgen, als es in rückhaltsloser Anerkennung seiner vermeintlichen Verdienste früher von mir leider geschehen ist; mehrere seiner übrigen Angaben (z. B. über das Achrooglykogen und über das Gallenmucin) haben den trefflichen Arbeiten Hammarsten's gegenüber ebenfalls nicht Stand zu halten vermocht.

Meine neuesten Ergebnisse über den Bau der Eiweisskörper [1]) veranlassen noch eine weitere Modification an den vorgebrachten Meinungen über die sog. Mucine, bei welchen ich meine bis dahin gehegte Ansicht über die albuminoiden Substanzen keineswegs ausschliesse, vorzunehmen.

Das Molecül eines Eiweissstoffes im gewöhnlichen Sinne ist ein Mixtum compositum von den chemisch allerverschiedenartigsten Atomcomplexen, und ich habe mich zu zeigen bemüht, dass mehrere der darin vorhandenen Atomgruppen fehlen, viele derselben in Form krystallisabeler Substanzen abgespalten werden können, ohne dass zugleich mit dem Ausfalle bestimmter, an die eliminirten Seitenketten unabänderlich geknüpfter Reactionen der rückständige Rest des ursprünglichen Eiweissmolecüls sich in seinen sonstigen Eigenschaften weit von den echten Eiweisskörpern zu entfernen braucht. So enthält ein gewöhnlicher Albuminstoff Tyrosin- [2]), Leucin-, Indol- etc. liefernde Gruppen, Complexe (wahrscheinlich von der Formel: $\begin{matrix} - CO \\ - CO \end{matrix}> NH$), welche die Biuretreaction [3]) be-

---

[1]) Krukenberg, Die reducirend wirkenden Atomgruppen in den Eiweissstoffen. Centralbl. f. d. medic. Wissenschaften. 1885. No. 35. S. 609 u. 610.

[2]) Die Tyrosin liefernde Gruppe ist durch das Eintreten der Millon'schen Reaction charakterisirt, welche auch das Tyrosin noch zeigt. Der hohe Schwefelgehalt der Keratine, bei deren Zersetzung ausnehmend viel Tyrosin gebildet wird, könnte die Vermuthung aufkommen lassen, dass die Tyrosinabspaltung und also auch die Millon'sche Reaction an einen schwefelhaltigen Atomcomplex im Eiweissmolecül gebunden ist; die intensive Röthung, welche das vollkommen schwefelfreie Fibroïn beim Kochen mit Millon's Reagenz annimmt, und aus welchem dementsprechend auch viel Tyrosin abzuspalten ist, spricht indess noch schlagender als die Erfahrungen an den Elastinen gegen eine derartige Annahme.

[3]) Biuret, mit Kupfersulfat und Natronlauge zum Sieden erhitzt, bietet nach den, unter meiner Leitung von Herrn cand. med. Hew-

dingen, ferner solche, auf denen die Adamkiewicz'sche Reaction [1]), der Xanthoproteïnsäurenachweis, die Kochprobe mit concentrirter Salzsäure beruhen; constante Bestandtheile aller echten

lett Brown (z. Zt. in Oxford) ausgeführten Untersuchungen dasselbe Spectralverhalten dar, als die an Eiweiss- oder Peptonlösungen ausgeführte Biuretprobe.

Völlig unhaltbar ist die Behauptung von F. Hofmeister (Zeitschrift f. physiolog. Chemie Bd. 2. 1878. S. 293) „dass die vielfach verbreitete Annahme, die Biuretreaction wäre für die peptonartigen Körper allein charakteristisch, ein Irrthum und dem Umstande zuzuschreiben sei, dass in der Regel die zur Untersuchung gelangenden Lösungen der Peptone wegen deren ungemeinen Löslichkeit viel concentrirter sind als die genuinen einem weitern Einengen nur schwer zugänglichen Eiweisslösungen." Echte Eiweisskörper geben die Biuretreaction ausnahmslos erst dann, wenn sie durch die Natronlauge in Albumosen, Peptone oder in sog. Leimpeptone verwandelt sind, und (abgesehen vom Biuret) ist die Reaction auf diese Körper in ihrer Verbreitung beschränkt.

[1]) Den gleichen Verbreitungsbezirk als die Adamkiewicz'sche Reaction besitzt die Kochprobe mit concentrirter Schwefelsäure, von welcher erstere eigentlich nur eine Modification darstellt (vgl. Adamkiewicz, Arch. f. exp. Pathologie. Bd. 3. 1875. S. 423). Bei längerem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure (1 : 4) färben sich ohne jeden weiteren Zusatz sämmtliche Eiweissstoffe im engern Sinne blutroth. Eine äusserlich ähnliche, aber spectroskopisch sehr abweichend gefärbte Lösung (vgl. Krukenberg, Grundriss der medic.-chemischen Analyse. Heidelberg. 1884. Taf. 4. Spectr. 11) liefert bekanntlich auch die Cholalsäure mit ihren Derivaten, doch tritt bei dieser die Färbung nur bei gleichzeitiger Anwesenheit gewisser anderer Substanzen (Glykose, Rohrzucker u. dgl. m.) auf, und die Rosafärbung, welche, beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, Ölsäure der Flüssigkeit ertheilt, ist ebensowenig als das Braunroth, welches bei Ausführung der Pettenkofer'schen Gallensäureprobe an Ölsäurelösungen beobachtet wird, mit der entsprechenden Eiweissreaction irgendwie vergleichbar. Die Keratine, das Elastoïdin, das Collagen (aus Hausenblase) sowie die Skeletine ertheilen der verdünnten Schwefelsäure nur eine goldgelbe (Collagen) oder bräunlichgelbe Farbe, zu dem, für die echten Eiweissstoffe typischen Blutroth kommt es bei Anwendung dieser Substanzen niemals.

Dass die Behandlung mit siedender, verdünnter Schwefelsäure der Adamkiewicz'schen Reaction und nicht der Kochprobe mit concentrirter Salzsäure gleichwerthig ist, lehrt am Besten das Fibroïn, welches die verdünnte Schwefelsäure beim Kochen anfangs äusserst schwach röthet, bald darauf aber in ein beständiges Bräunlichgelb umfärbt; Fibroïn giebt aber die Salzsäurereaction in exquisitem Grade, Andeutungen des Eintretens der Adamkiewicz'schen Reaction dagegen nur bei Beginn des Kochens.

Eiweissstoffe sind aber auch Atomgruppen, welche auf alkalische Kupferoxydlösung beim Kochen reducirend einwirken, und dieser Umstand ist für mich entscheidend genug, in allen Eiweisskörpern Verbindungen zu sehen, welche Kohlehydratreste führen, oder, wie sich Hammarsten ausdrücken würde, alle bekannt gewordenen Eiweisskörper als Proteïde zu betrachten. Der beste Ausdruck für den beobachteten Thatbestand wird indess der sein, dass man kohlehydratliefernde Gruppen sich einfach am Aufbau des Eiweissmolecüls betheiligen lässt, die Eiweisssubstanzen auch wohl als substituirte Kohlehydrate bezeichnet und nicht als Proteïde, deren einen Paarling eine kohlehydratliefernde Kette ausmacht; denn es erscheint mir unberechtigt, eine, wennschon die constanteste, der vielen Atomgruppen im Eiweissmolecül auszuwählen und sie allen übrigen, ohne dass bestimmte Veranlassungen dazu vorliegen, entgegenzustellen.

Die Erfahrungen über die Hyalogene, die Verzuckerung des Eiweisses bei Diabetes, die sog. Colloïd- und Mucinmetamorphosen der Kröpfe, Gallertkrebse, Myxome und Ovarialkystome liessen mir die Existenz von Kohlehydratradicalen auch in den sog. einfachen und genuinen Eiweissstoffen als absolute Nothwendigkeit erscheinen, schon lange bevor die reducirend wirkenden Eigenschaften der Eiweisskörper von mir experimentell nachgewiesen waren.

Von der Anwesenheit jener reducirend wirkenden Glykosidgruppen kann man sich an jeder Eiweiss-, an jeder Albumose-, an jeder Peptonlösung durch die Trommer'sche Probe jetzt leicht überzeugen, indem man die Probe nach dem Kochen schwach ansäuert und dann mit Ferridcyankaliumlösung versetzt. Das Kaliumsalz der Ferridcyanwasserstoffsäure ruft, wovon ich mich durch zahlreiche Versuche überzeugte, ausnahmslos nur in Kupferoxydullösungen einen braunrothen Niederschlag hervor, und derselbe wird auch in keiner Probe ausbleiben, welche mit einer albuminoïden Substanz [1]) oder mit einem eigentlichen Skeletine nach der

---

Die Adamkiewicz'sche Reaction sowie die Rothfärbung beim Kochen mit Schwefelsäure scheint ausnahmslos an eine schwefelhaltige Gruppe geknüpft zu sein; keine schwefelfreie Verbindung ist bekannt geworden, welche die Reaction gleichfalls zeigt.

[1]) Mein Aufsatz „Über die chem. Beschaffenheit der sog. Hornfäden von Mustelus und über die Zusammensetzung der keratinösen Hüllen um den Eiern von Scyllium stellare" (Mitth. aus der

angegebenen Behandlung ausgeführt wird. Ich prüfte eine grosse Anzahl, nach den gebräuchlichen Methoden selbst dargestellter, durch tagelang unterhaltene Dialyse von den diffusibelen Beimengungen befreiter Albumin- und albuminoïder Stoffe und vermochte auch in einer bedeutenderen Sammlung, die manches renommirte Eiweisspräparat enthielt, keines ausfindig zu machen, welchem das Reductionsvermögen nicht im ausgiebigsten Maasse eigen gewesen wäre [1]); die lösende Einwirkung anderer Atomcomplexe im Eiweissmolecül auf das gebildeteKupferoxydul macht es allein unmöglich, den Reductionsvorgang bei irgend einem Eiweisskörper wie an einer Traubenzuckerlösung direct zu beobachten [2]).

Zoolog. Station zu Neapel. Bd. 6. 1885. S. 286—296) datirt aus einer Zeit, wo mir das, sämmtlichen untersuchten Eiweisskörpern zukommende Reductionsvermögen für alkalische Kupferoxydlösung beim Kochen noch unbekannt war, und der in dieser Abhandlung sich findende Satz (S. 296), dass die Keratine niemals alkalische Kupferoxydlösung beim Kochen reduciren, ist daher nur auf eine direct erkennbare Reduction zu beziehen; nach v. Babo's Methode, aber allein nach dieser, ist auch bei Ausführung der Trommer'schen Probe an den Keratinen regelmässig die Anwesenheit von gebildetem Kupferoxydul zu constatiren.

[1]) In der Literatur finde ich nur das Reductionsvermögen eiweissartiger Stoffe für kalt angewendete ammoniakalische Silberoxydlösung und für Osmiumsäure eingehender discutirt; dieses wird dem lebenden Protoplasma zugesprochen und durch das Vorhandensein von Aldehydgruppen $\left(-C\overset{O}{\underset{H}{=}}\right)$ erklärt (Loew und Bokorny). Von Interesse war für mich folgende Bemerkung von Claude Bernard (Leçons sur les phénomènes de la vie etc. T. II. Paris. 1879. p. 77): „Nous sommes même convaincu à cet égard que les auteurs qui ont cru trouver du sucre dans les muscles ont été dupes d'une erreur dont il est difficile de se défendre, si l'on ignore que certaines matières albuminoides ou azotées contenues dans le muscle et encore mal déterminées peuvent agir sur le réactif cuprique à la façon de la glykose. Mais si l'on fait en sorte d'éviter cette cause d'erreur en traitant par le sulfate de soude, puis en reprenant par l'alcool absolu; si l'on ne prend point pour du sucre une substance qui ne présente qu' une seule réaction commune avec lui, et d'autre part si l'on veille à ne point en former aux dépens de la matière glycogène dont l'existence est indubitable, dans ces circonstances, disons-nous, on n'en trouve jamais les moindres traces".

[2]) Welcher Art die Atomgruppen sind, die das Kupferoxydul in Lösung halten, lässt sich zur Zeit noch nicht bestimmen. Werden die Eiweissstoffe resp. die Albumosen aus ihren Lösungen durch neutrales Ammoniumsulfat (vgl. Kühne, Albumosen und Peptone.

Die echten Albumosen und die echten Peptone, die aus den Skeletinen oder dem Collagen auf irgend eine Art hervorgegangenen sog. Leimpeptone wirken wie die reducirenden Zuckerarten erst beim Kochen reducirend auf das Kupferoxyd ein, und diese Reaction steht demnach mit dem Eintreten der Biuretprobe in gar keinem Zusammenhange; übrigens gelingt die Biuretfärbung nur bei Anwendung von Kupferoxyd-, nicht von Kupferoxydulsalzen. Der reducirende Einfluss der Albuminstoffe äussert sich aber nicht nur an alkalischer Kupferoxydlösung, sondern von concentrirteren Eiweiss- und besonders von concentrirteren Peptonlösungen wird nach dem Alkalisiren auch Cyanquecksilber reducirt und die Schwärzung, welche Magisterium Bismuthi darin erfährt, scheint ebenfalls ausschliesslich resp. theilweise auf Bildung einer Reductionsstufe desselben zu beruhen.

Die einzelnen Eiweisskörper differiren von einander dadurch, dass sie von den einzelnen Atomcomplexen, welche als charakteristisch für die Albuminstoffe im Allgemeinen angesehen werden, bald eine grössere, bald eine geringere Zahl enthalten, während das Fehlen solcher Gruppen, an welche das Eintreten gewisser, als entscheidend angesehener Reactionen gebunden ist, die betreffende Substanz in die Kategorie der Albuminoïde oder gar in

---

Sep.-Abdr. a. d. Verhandl. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. 3 Heft 4. 1885) gefällt, so bleibt an den Filtraten die Reduction vollständig aus. Dasselbe erfolgt nach Zusatz von Ammoniumsulfat aber auch in Peptonlösungen, ja selbst in reinen Glykoselösungen tritt alsdann bei Anstellung der Trommer'schen Probe mit dem üblichen Natronzusatz in Folge der Bindung des Natrons keine Reduction des Kupfersalzes mehr ein, und nur, wenn der Ammoniumsalzzusatz ein geringer oder der Natronzusatz ein sehr reichlicher ist, kommt es zwar zur Reduction, aber das Kupferoxydul bleibt gelöst. Da nicht nur Ammoniumsulfat, sondern alle von mir geprüften Ammoniumsalze (Chlorammonium, Ammoniumsesquicarbonat, Ammoniumphosphat) den Reductionvorgang hindern und Kupferoxydul lösen (Verhältnisse, die bei Prüfung ammoniakhaltiger Flüssigkeiten, z. B. von Harn, auf Glykose sehr zu beachten sind), so lag gewiss nichts näher, als die Auflösung des Kupferoxyduls bei Prüfung von Eiweisslösungen nach dem Trommer'schen Verfahren auf Amidgruppen, speciell auf Harnstoffreste im Eiweissmolecül zurückzuführen (vgl. hierzu: E. Brücke, Vorlesungen über Physiologie. Bd. I. Wien. 1874. S. 366); der Harnstoff als solcher besitzt die Fähigkeit, Kupferoxydul zu lösen, indess nicht, und es wird erst noch auf andere Radicale, welche in jeder eiweissartigen Substanz ständig vorhanden sein müssten, weiter zu fahnden sein.

die der Skeletine verweist [1]). Ich bin überzeugt, dass es unter den sog. Eiweissstoffen auch solche giebt, in welchen die reactionsfähigen Gruppen (d. h. die Atomcomplexe, welche die einzelnen Eiweissreactionen bedingen) den daneben vorhandenen Glykosidreihen gegenüber so sehr zurücktreten [2]), dass das Ganze sich bei

---

[1]) Ausgenommen die Biuretreaction, welche an Gruppen gebunden ist, die in direct reactionsfähigem Zustande nur am Biuret, an den Albumosen, Peptonen und an den sog. Leimpeptonen zur Beobachtung kommen, ist keine der oben angeführten Proben an einem Spaltungsproducte zu erzielen, falls nicht die zugehörige Muttersubstanz die betreffende Reaction gleichfalls giebt. An den Skeletinen lässt sich dieses Gesetz am Besten exemplificiren, aber auch für die Albuminoïde erweist es sich als durchaus zutreffend. Für die aus Collagen dargestellten Leimpeptone liegen zwar widersprechende Angaben von Hofmeister vor, die ich aber nicht bewahrheitet finde.

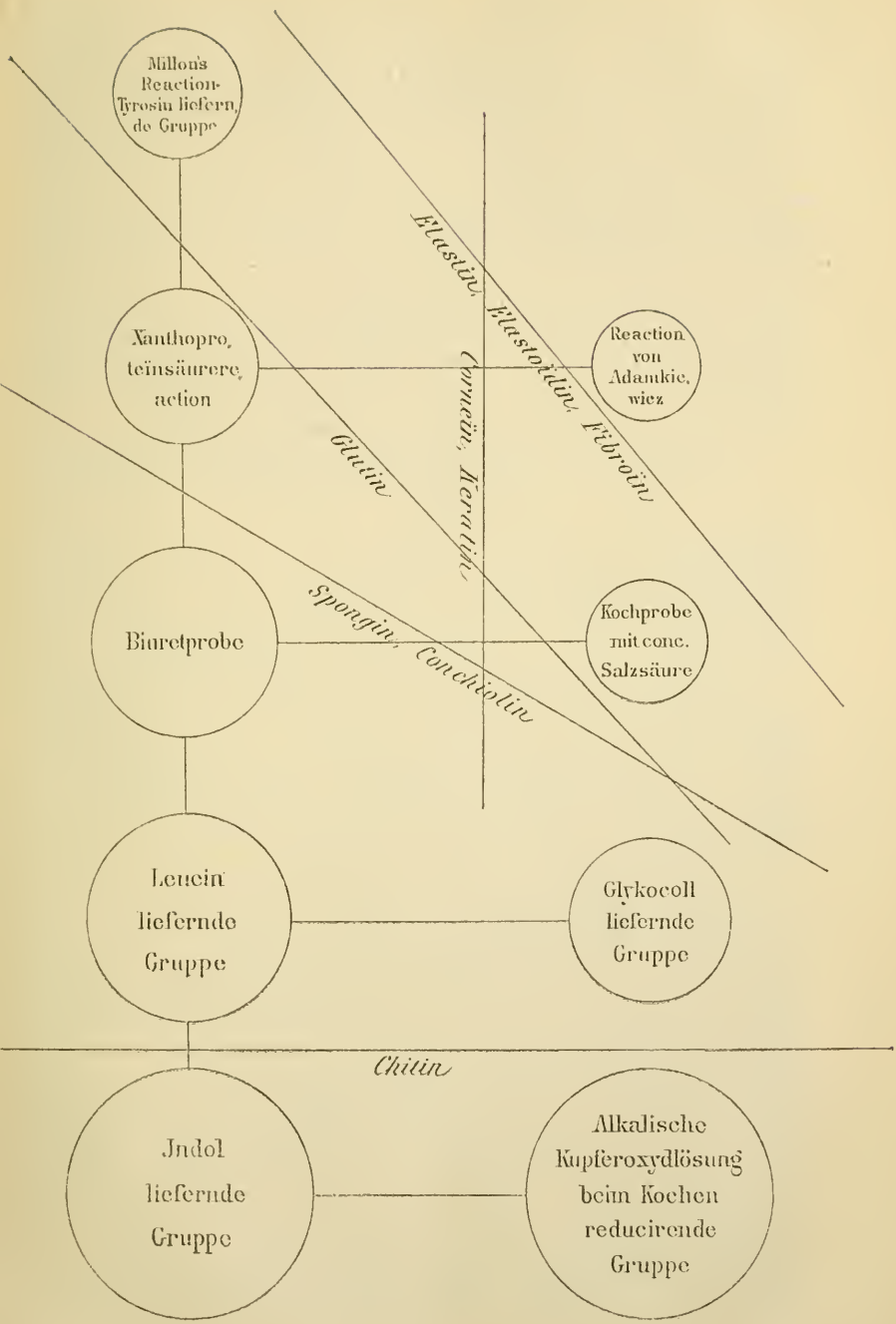
[2]) Entgegen den, in den Hauptsachen jetzt als irrthümlich erkannten Behauptungen Landwehr's, durch welche früher ein befriedigender Abschluss der Mucinfrage erreicht schien, bemerkt Hammarsten (a. a. O., S. 455) gewiss mit Recht, „dass wir uns erst am Anfange der Lösung dieser Frage, welche erst durch sehr umfassende, vergleichend anatomische und physiologisch-chemische Untersuchungen ihre endgültige Lösung finden wird", befinden. Ob nun aber unsere, im Obigen entwickelten allgemeinen Anschauungen über die Hyalogene und Hyaline, und dementsprechend auch über die sog. Mucine, für deren Kenntniss die Arbeiten Hammarsten's so fruchtbare gewesen sind, durch fortgesetzte Detailuntersuchungen noch wesentlich zu verändern und zu vertiefen sein werden, möchte ich in Zweifel ziehen. Gerade bei Stoffen von so wechselnder Zusammensetzung wie es die sog. Mucine sein müssen, führt, — das zeigen die Arbeiten Landwehr's schon zur Genüge — eine Detailforschung, ohne leitende Gesichtspunkte unternommen, nur gar zu leicht auf Irrwege, und hier ist es mehr als irgendwo sonst in der chemischen Physiologie geboten, durch das Studium der einfacheren Verhältnisse erst den Blick für das Complicirtere zu erwerben. Desshalb würden sich das sog. Hyalin der Echinococcusblasen, die Substanz der Wohnröhren von Chaetopoden und die Hyalogene in der Holothurienhaut vorläufig weit besser zur Untersuchung eignen als die Stoffe von weit weniger ausgesprochenem hyalogenen Charakter, welche sich in Secreten und pathologischen Producten bei Säugethieren vorfinden. In letzteren Vorkommnissen maskiren oft nur mechanisch beigemischte Eiweisskörper die wahren Eigenschaften der Hyalogene wie der aus diesen entstandenen Hyaline und sind auch wohl nicht immer nach eingeleiteter proteolytischer Verdauung als Peptone und Albumosen von den intact gelassenen Hyalogenen resp. Hyalinen erfolgreich zu trennen. Jedenfalls sollte aber der Versuch, eine derartige enzy-

flüchtiger Untersuchung als das Gemisch eines Kohlehydrates mit mehr oder weniger Eiweiss präsentirt [1]), und ich kann mir auch sehr wohl nach meinen Erfahrungen an den hierhin zählenden Substanzen vorstellen, dass solche Körper nach gewissen, nur lockernd auf die einzelnen Atomgruppen im Molecül einwirkenden Operationen (z. B. nach Maceration mit 10—20 %iger Natronlauge) keinen, in irgend welcher Art an einen sog. Eiweisskörper erinnernden Rückstand hinterlassen. Dieses ist überhaupt keine Vermuthung, sondern dass Derartiges wirklich beobachtet wird, habe ich am Spirographin gezeigt. Alle diejenigen Substanzen nun, welche sich wie das Spirographin verhalten, bezeichne ich als Hyalogene, und ich war mir bei Einführung dieses Namens vollauf bewusst, dass darunter nicht, wie Hammarsten (a. a. O., S. 449) will, „die verschiedenartigsten Substanzen in eine Gruppe zusammengeführt werden", sondern dass dieser Begriff ein so präciser ist, wie wir deren in der chemischen Physiologie nur wenige besitzen. Die Mehrzahl der eiweissartigen Substanzen weicht von den Hyalogenen jedoch dadurch ab, dass die Glykosidgruppen den übrigen (den Tyrosin-, Leucin-, Indol- etc. liefernden) Atomcomplexen gegenüber im Molecül sehr zurücktreten, und dass es deshalb auch in diesen Fällen weit schwieriger als bei den Hyalogenen (Spirographin, sog. Hyalin der Echinococcusblasen, Chondrosin etc.) gelingt, eine Zersetzung einzuleiten, bei welcher weder ein eiweissartiger Rest zurückbleibt, noch Körper von Eiweissnatur secundär gebildet werden. Zweifellos werden alle Übergänge zwischen den Hyalogenen und solchen Körpern, die nicht mehr nach Art der Zuckerstoffe reducirend wirken, sich in den Reactionen aber völlig den Eiweissstoffen anschliessen, aufzufinden sein, doch sei nochmals hervorgehoben, dass meine Bemühungen, einen derartigen idealen Eiweisskörper aufzufinden, welchem die Reductionsfähigkeit für siedende alkalische Kupferoxydlösung fehlt, völlig fruchtlose geblieben sind.

---

matische Trennung herbeizuführen, niemals unterlassen werden, und ich bedaure lebhaft, dass von Hammarsten weder das Mantelmucin, noch das Glykoproteïd nach andauernder Pepsineinwirkung auf ihre Eigenschaften geprüft sind; denn wahrscheinlich wären dann Producte beobachtet worden, welche sich ähnlich dem Onuphin, der Chondroïtsäure und dem Spirographidin zwar als stickstoffhaltig, aber als reactionslos bei Anstellung der Eiweissproben erwiesen hätten.

[1]) Auch in pflanzlichen Zellmembranen deutet die Anwesenheit stickstoffhaltiger Substanzen, welche nach ihrer Reinigung die typischen



Die Constitution der Eiweissstoffe und ihrer entfernteren Derivate.

Die im Vorhergehenden erörterten Constitutionsverhältnisse der Eiweisskörper und ihrer Abkömmlinge [1]) habe ich speciell für Unterrichtszwecke in einem Schema [2]) zum Ausdrucke gebracht, welches auf S. 10 im verkleinerten Maassstabe reproducirt ist. In demselben sind die durch das Studium der Eiweissderivate als die constantesten erkannten Atomcomplexe resp. die denselben angehörenden Reactionen durch eine grössere Kreisfläche dargestellt als die weniger beständigen; je constanter eine Atomgruppe sich erwies, desto tiefer kam sie in dem Schema zu stehen, und dieselben linker Hand sind beständigere als die rechts gelegenen, welche Letzteren sich als den Ersteren zugehörige Seitenketten präsentiren. Auf der ca. viermal grösseren Originalzeichnung sind die Kreisflächen durch eine, für jede derselben besonders in Anwendung gebrachte Farbe leicht unterscheidbar gemacht.

In welcher Weise nun die einzelnen Albuminoïde und Skeletine von den veritabelen Eiweisssubstanzen abweichen, welcher Re-

---

Eiweissreactionen nicht mehr zeigen, beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure aber Zucker liefern und desshalb auch meist fälschlich für reine Cellulose gehalten wurden, auf Verhältnisse hin, welche denen der Hyalogene insofern analog sind, als es sich auch hier um intermediäre Glieder von Eiweissstoffen und Kohlehydraten handelt.

[1]) Die nächsten Derivate der Eiweissstoffe (Albuminate, Albumosen, Peptone) habe ich vorläufig unberücksichtigt gelassen. Bis vor Kurzem schien es, als ob in den angeführten Reactionen selbst zwischen den Peptonen und den genuinen Eiweissstoffen keine gravirendere Unterschiede beständen; neuere Untersuchungen, deren Publication erst noch abzuwarten ist, haben indess, wie mir Herr Geheimerath Kühne gütigst mittheilte, zu anderen Resultaten geführt.

[2]) Derartige Schemata, welche die chemisch verwandten Substanzen zu Gruppen vereinigen, Alles zur Anschauung bringen, was im Laufe der Geschichte Wichtiges über dieselben erschlossen ist und jedes Nebensächliche, sowie den Ballast des Unfruchtbaren und Unzuverlässigen ausschliessen, sind von mir auch für mehrere andere thierische Stoffwechselproducte, so z. B. für die Xanthinkörper, die Hämoglobinderivate, die Choline, die Indigofarbstoffe entworfen und von Herrn Giltsch hieselbst zum Theil in künstlerischer Vollendung zur Ausführung gebracht. Es regen dieselben dadurch, dass sie jede Lücke unseres Wissens mit voller Klarheit hervortreten lassen, den Eingeweihten zu weiterer Forschung in einer klar durchschauten Richtung an und geben dem Anfänger nicht nur ein verständliches Bild von dem Zusammenhange, welcher unter den chemisch-physiologisch wichtigsten Substanzen besteht, sondern machen ihn zugleich mit dem gegenwärtigen Stande unserer Wissenschaft vollauf bekannt und führen ihn, was selbst der verständlichste und durchgearbeitetste Vortrag so sicher und rasch nie vermag, in den Geist der Forschung ein.

actionen die Eiweissstoffe bei ihrem Übergange in die einzelnen Derivate verlustig gehen, versinnlichen die das Schema durchsetzenden schrägen Linien, durch welche eine oder mehrere Atomgruppen resp. die denselben entsprechenden Reactionen von dem Kerne des Eiweissmolecüls gleichsam abgeschnitten werden. So kommt z. B. beim Elastin, Elastoïdin und Fibroïn allein die Adamkiewicz'sche Reaction, beim Corneïn und Keratin daneben noch die Kochprobe mit concentrirter Salzsäure zum Ausfall, und beim Chitin reducirt sich das gesammte Molecül auf die Indol liefernde und auf die alkalische Kupferoxydlösung beim Kochen reducirende Gruppe. Bei der Demonstration des vergrösserten Schemas verfährt man zweckmässig so, dass man mittelst eines gleich grossen Blattes von weissem Papier, den schräg verlaufenden Linien entsprechend, die ausfallenden Kreise verdeckt.

Zu dieser schematischen Darstellung ist noch Mehreres zu bemerken. Erstens enthält ein Eiweissmolecül nicht nothwendig nur Eine von jeder der verzeichneten Atomgruppen, sondern von den meisten derselben voraussichtlich mehrere, und zweitens könnten auch sehr wohl mehrere Reactionen oder mehrere Spaltungsproducte, welche uns zur Annahme verschiedener, z. B. der Glykocoll und Leucin liefernden Gruppen veranlassten, von der Anwesenheit ein und desselben Atomcomplexes bedingt sein. Die Möglichkeiten letzterer Art sind durch die bereits aufgedeckten Thatsachen auf ein Minimum herabgedrückt, aber in einer verschiedenen Anzahl der einzelnen Gruppen wird unter anderen ein Grund für die Verschiedenartigkeit der einzelnen Eiweisssubstanzen zu suchen sein, für eine Verschiedenartigkeit, die sich auch in den quantitativen Abweichungen gewisser Zersetzungsprodukte (Leucin, Tyrosin, Glykocoll u. dgl. m.) und dementsprechend auch in einem ungewöhnlich schwachen Ausfalle einiger sog. Eiweissreactionen (z. B. der Xanthoproteïnsäurereaction beim Corneïn oder der Millon'schen Reaction an Glutinlösungen) widerspiegelt. Quantitative Differenzen unter den Spaltungsprodukten müssen aber nothwendig auch dann beobachtet werden, wenn durch den Ausfall von Atomgruppen der Procentgehalt des Ganzen an den übrigbleibenden Atomcomplexen wächst, und da nun nach dem an Beispielen erläuterten Gesetze die Reactionen der Spaltungsproducte durch die Reactionen der Muttersubstanz bestimmt sind, so werden die Abweichungen sämmtlicher Albuminoïde von den echten Eiweissstoffen, als deren Derivate dieselben doch zu betrachten sind, nur auf diese indirecte Weise zu erklären sein. So leuchtet allein schon die Unhaltbar-

keit der Drechsel'schen Hypothese [1]) ein, dergemäss bei der Entstehung der Keratine aus Eiweiss, im „Eiweiss ein Theil des Sauerstoffs durch Schwefel und ein Theil des Leucins (oder einer anderen Amidosäure) durch Tyrosin substituirt" werden soll. Durch eine einfache Wasserabgabe oder durch den Austritt complicirter zusammengesetzter organischer Atomgruppen aus dem ursprünglichen Eiweissmolecül lassen sich alle über die Albuminoïde erschlossenen Thatsachen vollkommen verständlich machen, und dieselben liefern uns auch den Schlüssel für das Verständniss der Genese und der von den der Eiweissstoffe abweichenden Eigenschaften der Skeletine, der Hyalogene, ja selbst der reinen Kohlehydrate.

Die bisherigen Ermittelungen über die Verbreitung und das Entstehen der Skeletine machen es sehr unwahrscheinlich, dass bei dem Zerfalle, welchem das Eiweissmolecül beim Übergange in ein Skeletin unterworfen sein muss, alle einzelnen Stufen durchmessen werden, welche nach unserem Schema möglich sind. Damit es z. B. zur Entstehung von Spongin kommt, braucht zweifellos nicht zuerst ein elastinartiger, darauf ein keratinöser und schliesslich erst noch ein collagener Körper zu entstehen, sondern es können durch einen vitalen Process auch mehrere verschiedenartige Atomgruppen gleichzeitig abgesplissen werden, und der sich erhaltende Rest stellt dann eines jener, nur bei einer beschränkten Anzahl von Thierklassen zu findenden Skeletine dar: Conchiolin bei Lamellibranchiaten und Gastropoden, Chitin bei Arthropoden, Cephalopoden und Brachiopoden, Corneïn bei Gorgoniden und Anthipatiden, Spongin bei Spongien. Wie diese chemischen Constitutionsverhältnisse mit der elementaren Zusammensetzung der Skeletine, welche sich durch die allgemeine Formel: $C_{30}\ H_{40\ +\ 2n}\ O_{10\ +\ n}\ N_{4,9\ \text{oder}\ 10}$ ausdrücken lässt, und welche, wie ich [2]) gezeigt habe, auf eine Kohlehydratnatur derselben hinweist, in Einklang zu bringen sind, werden erst fortgesetzte Untersuchungen zu lehren haben. Interessant bleibt indess die Thatsache, dass sich bei den künstlich ausgeführten Spaltungen der Eiweisskörper

---

[1]) E. Drechsel, Chemie der Absonderungen und Gewebe. Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. 5. Theil 1. Leipzig. 1883. S. 601.

[2]) Krukenberg, Grundzüge einer vergl. Physiologie der thierischen Gerüstsubstanzen. Heidelberg. 1885. S. 194 ff. und S. 215.

und ihrer weit abliegenden Derivate (Skeletine) die ursprüngliche Verknüpfung der Atomgruppen noch in den Endproducten documentirt. So dürfte z. B. beim Chitin der Stickstoff der Indol bildenden Gruppe im Glykosamin wiedererscheinen, und ihre Anwesenheit im Chitin lediglich die Darstellung eines reinen Kohlehydrates aus demselben so sehr erschweren; ferner scheinen auch die mit der Biuretgruppe verbundenen Atomcomplexe allein die künstliche Harnstoffabspaltung aus Eiweissstoffen zu verhindern [1]).

Die Verbreitung der albuminoïden Substanzen bei den Wirbelthieren veranlasst die gerade entgegengesetzte Schlussfolgerung als die Genese der Skeletine zu ziehen; hier finden sich sämmtliche Übergänge, auch wenn wir von den Gerüstsubstanzen absehen, deren Beziehungen zu einfacher zusammengesetzten Körpern jüngst erkannt sind, wie z. B. von dem sog. Chondrogen und den sog. Mucinen. Die früher ganz allgemein angenommene Kluft zwischen den Collagenen [2]), den Elastinen und den Keratinen

---

[1]) Unserem Schema zur Folge würde, wenn, wie anzunehmen ist, die Biuretreaction die bei dem vitalen Stoffumsatze zur Harnstoffbildung führende Gruppe indicirt, aus keinem der bekannt gewordenen Eiweissderivate Harnstoff in einer so einfachen Weise abgespalten werden können, als aus dem Spongin und dem Conchiolin, bei denen die in jedem Eiweisskörper vorhandenen, leichter angreifbaren Atomcomplexe vollständig fehlen.

[2]) Den Autoren, welche dem Collagen die Xanthoproteïnsäurereaction vollkommen absprechen, kann ich nicht beipflichten. Reine Glutinlösungen geben niemals Andeutungen der Millon'schen Reaction, aber noch immer scharf, wenn auch schwach die Xanthoproteïnsäurereaction; dieser Umstand ist wichtig, weil er lehrt, dass das Eintreten der Xanthoproteïnsäurereaction von dem der Millon'schen Reaction unabhängig erfolgt.

Nachträglich begegne ich einer Notiz von O. Nasse (Zur Anatomie und Physiologie der quergestreiften Muskelsubstanz. Leipzig. 1882. S. 12), welche für die Deutung der Xanthoproteïnsäurereaction (welche z. B. durch Bildung von Pikrinsäure oder Stychninsäure auch mit zahlreichen, dem Eiweiss fernstehenden, namentlich aromatischen Körpern zu Stande kommt [F. Hofmeister, a. a. O., S. 292 und 310]) wichtig ist, und die ich daher noch zu erwähnen habe. „Mir selbst war", sagt Nasse, „als mir die Thatsache aufstiess, dass schon die geringste Spur von Alkali die gelbe Farbe der Orthonitrophenollösung in Orange umändert, nur sehr unbedeutend dagegen die der Paranitrophenollösung, weniger die practische Verwerthung eingefallen als die Ähnlichkeit mit der Farbenveränderung, welche die bei der Behandlung der Eiweisskörper mit Salpetersäure entstehenden Nitroproducte, Xanthoproteïnsäure

füllt jetzt das Elastoïdin [1]) aus, welches sich in seinen Löslichkeitsverhältnissen den Elastinen, in seinen Zersetzungsproducten (Tyrosin) den Keratinen, in seiner elementaren Zusammensetzung und seinem Verhalten gegenüber den proteolytischen Enzymen den Collagenen eng anschliesst. Die Collagene, Elastine und Keratine scheinen sich erst durch verhältnissmässig spät erfolgende, durch secundäre Einflüsse bedingte Veränderungen aus einem gleichen, einheitlichen Materiale zu differenziren. Eine wie nahe Verwandtschaft fernerhin auch unter den sog. Mucinen und den Keratinen bestehen kann, lehren die Arbeiten über das sog. Schalenkeratin des Hühnereies, welches sich mit demselben Rechte als ein erhärteter mucinöser Stoff oder als ein Keratin auffassen lässt.

Unsere nächste Aufgabe wird die sein, das Schema noch weiterhin dadurch zu vervollständigen, dass wir dem Zustandekommen der übrigen, bislang unberücksichtigt gebliebenen Eiweissreactionen auf den Grund gehen und zeigen, an welche Atomcomplexe die-

---

genannt, zeigen. Nachdem ich (Sitzungsb. d. naturf. Gesellsch. zu Halle. 1879) nachgewiesen habe, dass im Eiweissmolekül von aromatischen Gruppen sich jedenfalls eine einfach hydroxylirte (vielleicht neben hydroxylfreien Gruppen) findet, ist es wohl nicht allzu gewagt, die so leicht durch die Einwirkung von verdünnter Salpetersäure eintretende Xanthoproteïnsäurereaction zu erklären durch die Bildung von Orthonitrophenol. Daneben mag wohl auch bei stärkerer Nitrirung Di- und Trinitrophenol entstehen können, die Bildung von Orthonitrophenol genügt aber, um die Farbenveränderung auf das Deutlichste zu zeigen".

Während demnach die Xanthoproteïnsäurereaction den Kern der aromatischen Verbindungen zur Anschauung bringt, haftet die Leucin- und Glykocollabspaltung an Radicalen, welche den Fettkörpern zugehören. Diese beiden homologen Amidosäuren — von denen das Leucin (d. i. Amidocapronsäure) erfahrungsgemäss ein constanteres Zersetzungsproduct von Eiweissderivaten ist als das Glykocoll (d. i. höchst wahrscheinlich Amidoessigsäure) — müssen, wenn nicht gar in ein und demselben, so doch in chemisch nahe stehenden Atomcomplexen ihre Entstehung haben, und zwar können diese im Eiweissmolecül auch nur sehr benachbart orientirt sein. Letzteres ergiebt sich daraus, dass Leucin allemal neben Glykocoll als Zersetzungsproduct auftritt, und dass diese Abspaltungen auch noch nach Fortfall der die Leucin und Glykocoll liefernden Gruppen in unserem Schema nach aussen hin deckenden Atomcomplexe — welche die Adamkiewicz'sche, die Salzsäure-, die Millon'sche und die Xanthoproteïnsäurereaction bedingen — erfolgen.

[1]) Vgl. Krukenberg, Über die chem. Beschaffenheit der sog. Hornfäden etc.; a. a. O., S. 286—293.

selben gebunden sind. Eine weitere wichtigere Aufgabe wird aber darin bestehen, die durch das Schema ausgedrückten Spaltungen am Eiweissmolecül in derselben Weise zur Ausführung zu bringen, wie das der lebende Organismus zur Zeit noch allein vermag; dieser ist im Stande, nicht nur die einzelnen Atomcomplexe aus dem Eiweissmolecüle bis zum Collagen hin ganz successive abzuspalten, sondern zweifellos auch dazu, aus dem bis auf's Spongin reducirten ursprünglichen Eiweissmolecüle allein noch die fragliche Harnstoffgruppe zu eliminiren, wennschon uns der dabei resultirende Rest noch völlig unbekannt ist. Indem der lebende Organismus den Atomcomplex im Eiweissmolecüle, an welchen das Eintreten der Biuretreaction geknüpft ist, seinen Kräften unmittelbar zugängig zu machen weiss, zersetzt er vermuthlich das Eiweiss unter reichlicher Bildung von Harnstoff, und wenn im Diabetes die normalen Zersetzungsprocesse in ihm versiegen, stellen sich andere ein, die von dem ganzen Eiweissmolecüle nur noch die Kupferoxyd reducirende Gruppe als erkennbar für uns in dem Harnzucker übrig lassen.

Jena, d. 7. September 1885.

Untersuchungen über den chemischen Bau der Eiweissstoffe.

Erste Mittheilung.

Es musste auffallen, dass einige, für sehr beständig und widerstandsfähig angesehene Albuminoide (Keratin, Spongin, nach M. S. Schultze und Horbaczewski auch das Elastin) durch überhitztes Wasser verhältnissmässig rasch gelöst werden, und ich warf deshalb die Frage auf, warum die auf diesem Wege so leicht aufzuschliessenden Substanzen von keinem der beiden proteolytischen Enzyme angegriffen werden. Ich habe gezeigt, dass die schliesslichen Zerfallsproducte (Tyrosin, Leucin, Glykocoll) keine Entscheidung dieser Frage zu treffen erlauben, glaube aber jetzt den Nachweis liefern zu können, dass der Grund für die Unverdaulichkeit jener albuminoiden Stoffe in ihrer primären Zersetzungsweise zu suchen ist. Von Bedeutung sind in dieser Hinsicht folgende meiner Versuchsresultate.

Mehrere dickwandige Glasröhren wurden mit je 2 gr. zuvor mit Wasser, Alkohol und Äther ausgezogenem, über conc. Schwefelsäure getrocknetem Fibrin und mit 50 cbc. destillirtem Wasser beschickt. Darauf wurden die Röhren zugeschmolzen und 30 Stunden lang auf 160—170° C. erhitzt. In den meisten Röhren hatte sich das Fibrin bis auf unbedeutende Trübungen zu einer mehr oder weniger alkalischen Flüssigkeit gelöst, welche filtrirt und mit Salzsäure resp. Salpetersäure neutralisirt wurde. Das mit kaltem Wasser gewaschene Neutralisationspräcipitat wurde mit 5 %iger Kochsalz- resp. 5 %iger Salpeterlösung ausgekocht und hinterliess einen für verdünnte Mineralsäuren sehr unlöslich, für Pepsin unverdaulich gewordenen Eiweisskörper, der in 2 %iger Soda noch zu lösen war und ausnahmslos sämmtliche Eiweissreactionen zeigte. Es darf derselbe hiernach als Antialbumid an-

gesprochen werden, während der von den heissen Neutralsalzlösungen aufgenommene Körper seinem ganzen Verhalten nach (gegen Salpetersäure, Essigsäure u. Ferrocyankalium etc.) reine Hemialbumose war. Das Filtrat vom Neutralisationsniederschlage wurde mit neutralem Ammoniumsulfat gesättigt, in Folge dessen sich abermals Hemialbumose ausschied, die Ammoniumsulfat enthaltende Lösung durch Baryt zersetzt, eingedampft, durch eine eben ausreichende Schwefelsäuremenge vom Baryt befreit und mit positivem Resultate auf Pepton geprüft. — Der Inhalt einiger anderer Röhren wurde nach dem Neutralisiren bei schwach alkalischer Reaction auf dem Wasserbade eingedampft, der Verdampfungsrückstand mit absolutem Alkohol ausgekocht, der alkoholische Auszug über Chlorcalcium und conc. Schwefelsäure verdunstet. Der Rückstand enthielt neben langen, spiessigen Krystallen Leucin wie Tyrosin, und wir ersehen hieraus, dass die Zersetzung des Fibrins durch überhitztes Wasser entsprechend verläuft als beim Erwärmen mit Schwefelsäure von 3—5 % auf 100° C.

Ähnliche Versuchsreihen habe ich an reinem Serumeiweiss und Eieralbumin ausgeführt. Es ist unnöthig, auf diese specieller einzugehen; allemal ergab sich als entscheidender Punkt, dass Serumeiweiss wie Eieralbumin durch das überhitzte Wasser einen Zerfall in Stoffe aus der Anti- (Antialbumid) und der Hemigruppe (Hemialbumose, Hemipepton, Leucin und Tyrosin) erfahren hatten, dass echte Eiweissstoffe durch überhitztes Wasser ebensowie unter der Einwirkung der verdauenden Enzyme oder heisser verdünnter Mineralsäuren eine Spaltung erleiden. Es sei nur noch erwähnt, dass, wenn 2 gr. jahrelang trocken aufbewahrtes Eieralbumin mit 50 cbc. destillirtem Wasser 20—30 Stunden auf 160—170° C. erhitzt waren, sich stets ein gelbbrauner, durchsichtig gallertiger Rückstand mit allen charakteristischen Eiweissreactionen erhalten hatte. Dieser Rest trug kein Zeichen einer Gerinnung an sich, war aber weder durch mehrmaliges Aufkochen mit verdünnten Mineralsäuren, noch mit 2 %iger Sodalösung aufzuschliessen und wurde weder durch kräftige Pepsinsalzsäure, noch durch sehr wirksames Trypsin (in 1 % Soda oder in 0.1 % Salicylsäure) bei tagelangem Erwärmen auf 38° C. in irgendwie ersichtlichem Masse angegriffen; mit 5 %iger Kochsalzlösung ausgekocht, war keine Hemialbumose daraus zu gewinnen.

Die Erfahrungen über die Veränderungen der echten Eiweisssubstanzen (sei es durch Säuren oder Alkalien, sei es durch überhitztes Wasser oder durch die Enzyme) deuten an, dass es sich

dabei um einen molecularen Zerfall handelt; um einen molecularen Zerfall jedoch, der im ersten Stadium nicht einer derartigen Spaltung wie z. B. an den Glykosiden gleicht, sondern der darin besteht, dass aus einer Doppelverbindung eine zusammenhängende Reihe von Atomcomplexen abgespalten wird, welche sich dann, und zwar noch neben anderen Atomgruppen in dem zweiten primären Spaltungsproducte, gleichsam in dem Reste des ursprünglichen Eiweissmolecüls wiederfindet. So entstehen aus den echten Eiweissstoffen im ersten Stadium der Spaltung Producte (Stoffe der Hemigruppe), welche alle verschiedenen Atomcomplexe jener noch in sich führen, daneben aber solche, welchen der labilste oder die labilsten Atomcomplexe des Eiweisses bereits fehlen können und deren Verhalten bei den einzelnen Eiweissreactionen uns deshalb einen Aufschluss darüber zu geben vermag, an welcher Stelle dieser letztere Eiweisspaarling (Antikette) von dem Stamme (Hemikette) des ursprünglichen Eiweissmolecüls durch die angewendeten Agentien abgesplissen wurde und welcher Atomcomplex in letzterem die beiden Ketten eigentlich verankerte. Die Albuminoide und Skeletine würden hiernach in eine Reihe mit den Körpern der Antigruppe zu stellen sein, während die echten Eiweissstoffe als Doppelverbindungen dieser mit Körpern der Hemigruppe zu gelten hätten; die Albuminoide und Skeletine unterscheiden sich von den echten Eiweisssubstanzen somit nicht nur dadurch, dass ihnen ein oder mehrere, allen echten Albuminen zukommende Atomcomplexe mangeln, sondern weiterhin auch dadurch, dass ihnen jene ganze, complicirt zusammengesetzte Hemikette mit den, für die echten Eiweisskörper am typischsten, zugleich aber labilsten Atomgruppen abgeht [1]). Die Albuminoide und Skeletine verhalten sich — um einen sehr einfachen Vergleich zu ziehen — zu den Eiweissstoffen nicht wie das Methyl zu dem Methylalkohol, sondern wie das Methyl zu dem Methyläther. Aus diesen Betrachtungen folgt, dass kein einziges Albuminoid oder Skeletin den Verdauungsenzymen, deren Wirkungen ausnahmslos in Spaltungen bestehen, direct zugängig sein kann, wenigstens niemals in der Weise wie

---

[1]) Vermuthlich entstehen mehrfach im Organismus Albuminoide, indem die Hemialbumose abgespalten, gelöst, resorbirt und alsdann auch in Transsudaten nachweisbar wird.

Die Gründe, welche mich bestimmen, die Albuminoide und Skeletine den Anti- und nicht den Hemiproducten der Eiweissspaltung an die Seite zu stellen, können erst in einer spätern Abhandlung näher erörtert werden.

die Eiweisskörper, die einen Atomcomplex enthalten, der die Hemi- und die Antikette verbindet und von den Enzymen derart zu verändern ist, dass die Doppelverbindung in Folge dessen in ihre beiden Componenten auseinanderfällt. Das schliesst natürlich nicht aus, dass nach vorausgegangenen anderweitigen Eingriffen auch aus den Albuminoiden und Skeletinen Producte erhalten werden, welche enzymatisch zu verändern sind wie z. B. das Glutin aus dem Collagen, sondern dieses Beispiel kann uns nur in der Ansicht bestärken, dass die Kraft der Enzyme lediglich in Spaltungsprocessen beruht.

Die vorgetragene Auffassung gründet sich nun auf folgende Versuche. Wird nach den üblichen Methoden gereinigtes und durch anhaltende Pepsin- wie Trypsineinwirkung von allem Verdaulichen befreites Keratin (aus Kuhhorn) in gleicher Art wie vom Fibrin beschrieben wurde, dem Einflusse überhitzten Wassers ausgesetzt, so erfolgt unter günstigen Umständen eine vollständige Lösung zu einer bräunlich-gelben, mehr oder minder stark alkalischen, nach Schwefelwasserstoff riechenden, opalisirenden Flüssigkeit; diese filtrirt, giebt einen Neutralisationsniederschlag, der sich bis auf wenige Fäserchen in siedender 5%iger Kochsalzlösung auflöst. Der lösliche Antheil der Fällung besteht ausschliesslich aus einem Producte, welches direct aus dem Keratin hervorgegangen ist; wir wollen diesen Stoff Keratinose nennen und erhalten denselben sehr reichlich, wenn das Filtrat vom Neutralisationsniederschlage mit neutralem Ammoniumsulfat gesättigt, die Fällung abfiltrirt, mit destillirtem Wasser aufgenommen und durch Dialyse im fliessenden Wasser von dem Ammoniumsalze gereinigt wird. Unterwirft man eine derartige Keratinoselösung vor dem Aussalzen mit Ammoniumsulfat der Dialyse, concentrirt das Dialysat und sättigt nun mit Ammoniumsulfat, so entsteht regelmässig noch ein Niederschlag, der wegen der Nichtfällbarkeit in wässriger Lösung durch Essigsäure keine Keratinose, allen Analogiefällen gemäss aber auch kein Pepton sein kann. Dieselbe Erscheinung beobachtet man, wenn das Dialysat von peptisch verdautem Eiweiss mit Ammoniumsulfat gesättigt wird. Jener durch Sättigen mit Ammoniumsulfat aus dem Dialysate der zersetzten Keratinflüssigkeit gewonnene Körper ist von mir nicht näher untersucht; theils deshalb nicht, weil das analoge Product, welches bei der Eiweisszersetzung gebildet wird, noch völlig unbekannt ist, theils auch deshalb nicht, weil ich fand, dass es nur durch den Ausfall gewisser Fällungsreactionen von der Keratinose abweicht

und das Verhalten reiner Keratinoselösungen gegen Fällungsmittel durch die geringen Mengen jener diffusiblen Beimengung deshalb nicht alterirt werden kann.

Von den Keratinosereactionen, welche unten in der Tabelle zusammengestellt sind, seien nur einige besonders hervorgehoben. Reine Keratinoselösungen geben die Biuretprobe schon ohne erwärmt zu werden, und werden durch Mineralsäuren (Salzsäure, Salpetersäure, Metaphosphorsäure) wie durch Essigsäure in der Kälte gefällt; diese Niederschläge lösen sich beim Kochen wieder vollständig auf, kehren beim Abkühlen zurück und gestatten dieses abwechselnde Auflösen und Fällen eine unbeschränkte Anzahl von Malen. Ebenfalls starke Fällungen erzeugen Phosphormolybdänsäure und Gerbsäure, welche beim Kochen aber nur theilweise verschwinden, sowie Quecksilberchlorid, Alaun, Silbernitrat, neutrales und basisches Bleiacetat, die im Ueberschuss des Reagenz unlöslich sind; beim Kochen mit dem Silbersalze, erfährt letzteres eine Reduction. Eisenchlorid ruft keine Veränderung hervor. Eine Uebereinstimmung der charakteristischen Keratinosereactionen mit denen der Hemialbumose liegt auf der Hand, doch kann von einer Identität beider Substanzen schon deshalb keine Rede sein, weil Keratinose wohl die Millon'sche Reaction giebt, aber weder auf die Kochprobe mit conc. Salzsäure, noch auf die Adamkiewicz'sche Probe reagirt.

Wird Keratinose mit ausdialysirtem Pepsin und 0.1% iger Salzsäure bei Brutwärme digerirt, so verwandelt sich dieselbe in Keratinpeptone, in jene Körper, welche nach Sättigung des, durch überhitztes Wasser aus dem Keratin gewonnenen Lösungsgemisches mit neutralem Ammoniumsulfat in Lösung verbleiben und aus dieser nach Ausfällen der Schwefelsäure durch Barytwasser und Concentriren der Flüssigkeit genügend rein darzustellen sind. Die Keratinpeptone unterscheiden sich ausser durch ihr bedeutendes Diffusionsvermögen vornehmlich dadurch von der Keratinose, dass sie weder durch Mineralsäuren und Essigsäure, noch durch Quecksilberchlorid, neutrales Bleiacetat, Alaun und Ammoniumsulfat gefällt werden. Erst aus ihnen werden die Amidosäuren (Tyrosin und Leucin) entstanden zu denken sein, welche durch siedenden Alkohol nicht nur aus den durch überhitztes Wasser zersetzten Keratinen auszuziehen, sondern neben Keratinose auch in den Pellagraborken von Schmetzer aufgefunden sind.

Das bislang über das Keratin Gesagte gilt selbstverständlich nur für die peptisch wie tryptisch völlig unverdaubar gewordenen

echten Keratine. In den Eierschalen der Selachier liegt aber z. B. ein Secretionsproduct vor, an welchem sich der Verhornungsvorgang erst sehr allmählich, und zwar unter unseren Augen vollzieht. Während ihres intrauterinen Aufenthaltes sind diese Gebilde für Pepsin leicht verdaulich, und aus der verdauten Masse lässt sich Antialbumose abscheiden; in Uebereinstimmung hiermit resultirt bei der Zersetzung (von Schalen aus dieser Entwickelungsperiode) durch überhitztes Wasser alsdann auch Antialbumid, von dem bei Verwendung vollkommen keratinisirter und unverdaubar gewordener Hüllen nichts nachzuweisen ist.

Seit den Arbeiten von Kühne und Ewald weiss man allgemein, dass das Collagen, um verdaubar zu werden, künstlich einer Metamorphose unterworfen werden muss, und dass diese nicht nur durch Erhitzen mit Wasser, sondern auch durch Behandeln mit Säuren zu erreichen ist. Erst das daraus entstandene Glutin ist ein spaltungsfähiger und somit auch ein verdaulicher Stoff, von dem wir zur Zeit zwar nur die nächsten Spaltungsproducte (Semiglutin und Hemicollin) kennen. Noch schlechter ist es mit unseren Kenntnissen von der Verdaulichkeit des Elastins bestellt. Meine in den Gang gesetzten Versuche über die Einwirkung von überhitztem Wasser auf Elastin wurden dadurch vereitelt, dass die Röhren bei dem 20—30 Stunden langem Erhitzen auf 160° C. bis auf eine zersprangen, und in der erhalten gebliebenen sich das Elastin (im Widerspruch mit den Angaben von Schultze und Horbaczewski) nur unvollkommen angegriffen zeigte. Nach den Erfahrungen, welche ich an dem flüssigen Inhalte dieser Röhre wie über die Verdaulichkeit und die Verdauungsproducte des Elastins sammeln konnte, scheint es mir, dass das Elastin sowohl durch die Enzyme wie auch durch überhitztes Wasser unmittelbar, also ähnlich wie die Eiweissstoffe und nicht wie das Collagen oder Keratin, gespalten wird, indem sich mit dem Hemielastin zugleich geringe Mengen einer vielleicht sehr einfachen Verbindung bilden. Das Hemielastin wird durch Ammoniumsulfate aus seiner Lösung vollständig gefällt, die Elastinpeptone dagegen nicht; ersteres ist nicht nur ein constantes Product bei der Pepsin- und Trypsinverdauung des Elastins, sondern tritt auch bei der Zersetzung des letzteren durch überhitztes Wasser auf und wird durch Pepsin wie durch Trypsin in Peptone zerlegt.

Ausser den genannten Stoffen ist kein anderer bekannt geworden, welcher die Wirkungen der Verdauungsenzyme besser

aufzuklären im Stande wäre als das Spongin; denn dass gegen Alkalien, gegen überhitztes Wasser und gegen Säuren so resistente Substanzen wie das Fibroin, Cornein, Conchiolin und Chitin auch unverdaulich sind, kann wahrlich nicht Wunder nehmen. Das Spongin wird aber, wie ich zuerst beobachtet habe, von überhitztem Wasser vollkommen gelöst, und hier wirft sich wiederum die Frage auf, warum die Enzyme demselben gegenüber so wirkungslos bleiben. Eine Erklärung liefern folgende Versuche, welche bis zu jenem Körper hin, den wir Spongionose nennen werden, nur auf successive Veränderungen des Spongins, nicht auf Spaltungen schliessen lassen.

12 zugeschmolzene Glasröhren, von denen jede 1 gr. gereinigtes, zuvor auch mit Alkohol und Aether extrahirtes Spongin und 40 cbc. destillirtes Wasser enthielt, wurden 24 Stunden auf 170° C. erhitzt. In den meisten Röhren war das Spongin verflüssigt, in dreien derselben ein ungelöster Rest geblieben. Die mehr oder weniger stark alkalisch reagirenden Flüssigkeiten wurden mit Salzsäure neutralisirt und das Neutralisationspräcipitat abfiltrirt. Letzteres stellt ein Gemisch mehrerer Substanzen dar: die eine ist ein Alkalispongin, die anderen erwiesen sich als Producte hochgradiger Zersetzung, die keine Eiweissreactionen gaben und durch Hitze tiefgreifend veränderten Zuckerstoffen glichen.

Nach mehrwöchentlicher Maceration von Sponginstückchen mit gesättigtem Barytwasser wird, wie ich anderen Ortes mittheilte, das Spongin gelöst. Neutralisirt man dann den Baryt durch Salzsäure und schafft das Chlorbaryum sowie die im Ueberschuss zugesetzte Salzsäure durch Dialyse fort, so scheidet sich ein durch den Baryt in Lösung gehaltenes Sponginderivat aus. Dasselbe löst sich leicht in verdünnter Schwefelsäure, Salzsäure und Essigsäure, erweist sich dagegen als unlöslich in $2^0|_0$ Soda und giebt mit $5^0/_0$iger Kochsalzlösung gekocht keinen Körper ab, der ähnlich der Hemialbumose auf Säuren und Salze reagirt. Dieses Sponginderivat erhielt ich nicht in der zu einer Elementaranalyse erforderlichen Quantität, doch konnte ich durch 24stündiges Erhitzen von 0.8 gr. völlig aschefreier Substanz mit 30 cbc. destillirtem Wasser im zugeschmolzenen Glasrohre auf 160° C. constatiren, dass dasselbe in einen, für Wasser leicht löslichen indiffusiblen Körper (Spongionose) und schliesslich in Sponginpepton überzuführen ist. Mit jener Substanz nun, welche eine Vorstufe der Spongionose und des Sponginpeptons vorstellt, scheint mir das als Alkalispongin bezeichnete Product identisch zu sein.

Bei der Darstellung der Spongionose hielt ich mich an die durch überhitztes Wasser aus dem Spongin gewonnene Flüssigkeit und schlug zu ihrer Abscheidung folgendes Verfahren ein. Die von dem Neutralisationsniederschlage abfiltrirte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade zur Trockne verdampft und betreffs der Untersuchung auf einige andere Stoffe, von welchen später die Rede sein soll, mit absolutem Alkohol ausgekocht. Der vom Alkohol nicht aufgenommene Rückstand wurde in Wasser gelöst, durch Sättigen mit Ammoniumsulfat die Spongionose gefällt, diese abfiltrirt, wiederum in Wasser gelöst und durch Dialyse von dem beigemengten Ammoniumsulfat befreit. Die im Dialysor zurückgebliebene Spongionoselösung verhielt sich folgendermassen: Fällbar durch Silbernitrat, durch neutrales wie basisches Bleiacetet, nicht fällbar durch Quecksilberchlorid und Alaun; sie gab keine der Farbenreactionen des Eiweisses mit Ausnahme der Biuretprobe.

Sowohl durch zuvor ausdialysirtes Pepsin wie durch weitere Behandlung mit überhitztem Wasser von 160° C. ging die Spongionose vollständig in Sponginpepton über, welches aus der, durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat von der Spongionose befreiten Flüssigkeit auf folgendem Wege bereitet wurde. Die mit Ammoniumsulfat gesättigte Lösung wurde filtrirt, das Filtrat mit Barytwasser schwach überneutralisirt, eingedampft, der überschüssige Baryt durch Sättigen mit Kohlensäure beseitigt, das Filtrat auf dem Wasserbade eingeengt und abermals filtrirt. Diese Sponginpeptonlösung wurde allein noch gefällt durch Gerbsäure, Phosphormolybdänsäure wie durch basisches Bleiacetat und gab von den Farbenreactionen des Eiweisses ausschliesslich die Biuretprobe.

Die Farbenreactionen des Eiweisses haben uns als untrügliche Wegweiser gedient, uns mittelst der vergleichenden Methode einen Einblick in das labyrinthische Gefüge der Eiweissstoffe zu verschaffen. Weit schwerer mag es fallen, die Uebereinstimmungen in den Atomgruppirungen im Molecüle, welche die Fällungsnachweise zur Anschauung bringen, herauszufinden und von dem zu unterscheiden, was sich in der Reaction zwar gleich, aber in dem Wesen des Zustandekommens als grundverschieden gestaltet. Die Coagulationsverhältnisse und in Verbindung damit sicherlich auch die Effecte vieler Fällungsmittel variiren bei immerhin nahestehenden Producten ganz ausserordentlich; ich erinnere nur daran, dass richtige Eiweisslösungen in der Hitze gerinnen und das Coagulum sich alsdann beim Abkühlen nicht wieder löst, dass die Hemial-

bumose- und die Keratinosefällungen sich dagegen beim Erwärmen lösen um beim Abkühlen wieder zu erscheinen, dass neutrale oder schwach saure Hemielastinlösungen ähnlich dem Eiweiss zwar bei höherer Temperatur gerinnen, sich beim Abkühlen aber sofort wieder klären und dass Pepton- wie Glutinlösungen durch Erwärmen bekanntlich garnicht zur Gerinnung zu veranlassen sind. Ein gewisser Werth indess liesse sich vielleicht dem Umstande beilegen, dass einige Fällungsreactionen (z. B. mit Gerbsäure und Phosphormolybdänsäure) sich durch die ganze Reihe der Eiweissderivate bis zum Verschwinden der Biuretgruppe hindurchziehen; erst die reinen Hyaline (z. B. die Chondroitsäure) und die Abkömmlinge des Chitins, in welchen Reste der Indol liefernden Gruppe noch nachweisbar sind, geben dieselben nicht mehr. Ein Urtheil darüber, ob das Eintreten dieser Fällungen die Anwesenheit einer Leucin oder Glycin bildenden Gruppe nothwendig voraussetzt, bleibt uns, da versäumt wurde, die Hyaline auf derartige Spaltungsproducte zu prüfen, noch versagt.

Eine allgemeine Eigenthümlichkeit der bekannt gewordenen Hyaline besteht darin, durch basisches Bleiacetat gefällt zu werden; auch dem salzsauren Glykosamin kommt dieses Verhalten zu, wenn seine sauren Affinitäten zuvor durch Ammoniak gebunden wurden, und mit ihm bei der Chitinzersetzung gleichzeitig auftretende Körper von verwandter Constitution, über welche ich demnächst ausführlicher berichten will, werden durch basisches Bleiacetat direct gefällt. Es handelt sich bei diesen Stoffen um Eiweissderivate, bei welchen die Indol bildende und die Kupferoxyd reducirende Atomgruppe ihre Selbständigkeit im Molecül eingebüsst haben und, wenn man so will, zu einem einheitlichen Atomcomplexe, wahrscheinlich zu einem Amidokohlehydrate verschmolzen sind. In Uebereinstimmung hiermit ist die Fällbarkeit durch basisches Bleiacetat, wo dieselbe an Eiweissderivaten auftritt, auch gewöhnlich von einem ausgesprochenen Reductionsvermögen begleitet und wir dürfen für ihr Eintreten gewiss mit Recht jenen in den Hyalinen und Chitinderivaten so sehr in den Vordergrund tretenden stickstoffhaltigen Kohlehydratrest verantwortlich machen.

Die übrigen auf nachstehender Tabelle verzeichneten Fällungsnachweise gestatten meines Erachtens noch keine nähere Definition. Ich bemerke dazu, dass die Angaben über die Elastinderivate der Arbeit Horbaczewski's entnommen sind, dass die über das Semiglutin und Hemicollin von Hofmeister, die über

das Onuphin von Schmiedeberg herrühren, und alle übrigen Daten auf eigenen Untersuchungen resp. Nachprüfungen basiren. Ich verkenne dabei keineswegs die Unsicherheit, welche sich der Verwerthung von Versuchen verschiedener Autoren auf einem Gebiete entgegenstellt, wo man ganz im Dunkeln tappt und leitende allgemeinere Gesichtspunkte der Beurtheilung des Beobachteten keine Hülfe gewähren. Bei dem, mir zugängigen Materiale habe ich mich bemüht, auch die Salze und die flüchtigen Stoffe auf's Sorgsamste zu beseitigen. Als Repräsentant eines gelösten Eiweisskörpers bediente ich mich reinen Serumeiweisses, die Hemialbumose und Peptone wurden durch Pepsinverdauung aus rohem Fibrin dargestellt und nach den Kühne'schen Methoden durch Ammoniumsulfat isolirt. Die Hemialbumose wurde in siedendem Wasser gelöst und durch Dialyse von dem zugesetzten Kochsalz befreit. Aus der Peptonlösung wurde die Schwefelsäure durch Barytwasser und schliesslich das Ammoniak durch Eindampfen auf dem Wasserbade entfernt.

„Heutzutage", sagt Brücke[1]), „zweifelt niemand mehr daran, dass die Tyrosinreactionen des Eiweisses von einem aromatischen Atomcomplexe herrühren, der auch im Tyrosin enthalten ist und der nach O. Nasse's Beobachtungen[2]) über die Verbreitung jener Reactionen in allen einfach hydroxylirten aromatischen Verbindungen vorausgesetzt werden muss[3])." Ebenso sichergestellt

---

[1]) E. Brücke, Über das Alkophyr und über die wahre und die sog. Biuretreaction. Sitzungsber. d. math.-nat. Classe der k. Acad. d. Wiss. zu Wien. Bd. 87. Abth. 3. 1883. S. 142.

[2]) O. Nasse, Über die aromatische Gruppe im Eiweissmolecül. Sitzungsber. d. naturf. Gesellsch. zu Halle. 1879. S. 25.

[3]) Obiger Satz wird entsprechend den neueren Untersuchungen, welche ergaben, dass diejenigen, zu den Eiweisskörpern in naher Beziehung stehenden Substanzen, unter deren Zersetzungsproducten sich Tyrosin nicht findet, auch die Millon'sche Reaction nicht zeigen, dahin eingeschränkt werden müssen, dass die Anwesenheit der Tyrosin bildenden Gruppe in den Eiweiss- und eiweissartigen Substanzen für das Zustandekommen der Millon'schen Reaction ein unbedingtes Erforderniss zu sein scheint. Damit soll aber natürlich nicht gesagt werden, dass die Millon'sche Reaction in diesem Auftreten vom Tyrosin als solchem und nicht von einem weit einfacheren Atomcomplexe bedingt wird, welcher im Tyrosin, oder richtiger gesagt, in der Tyrosin liefernden Gruppe mitenthalten ist.

Um einen weitern Aufschluss über die Tyrosin bildende Gruppe im Eiweiss zu gewinnen, versuchte ich, die Piria'sche Probe mit Eiweiss und albuminoiden Substanzen, welche noch auf die Millon'-

Die wichtigsten Reactionen der

+ = Reaction erfolgt, 0 = Reaction bleibt aus.
U. l. bedeutet im Ueberschuss des Reagenz löslich.
U. u. „ „ „ „ „ unlöslich.

Wo Untersuchungen fehlen

	Gelöstes Eiweiss	Hemialbumose	Peptone	Hemielastin	Elastinpepton
Salpetersäure	+ (U. W. u.)	+ (W. l.)	0	+ (U. l.)	0
Essigsäure	+ (U. W. u.)	+ (U. W.	0	+	
Essigsäure + Ferrocyankalium	+ (W. u.)	+ l.) (W. l)	0	+	0
Metaphosporsäure .	+ (U. W. u.)	+ (U. u. W. z. Th. l.)	0		
Phosphormolybdänsäure	+ (U. W. u.)	+ (W. z. Th. l.)	+ (W. z. Th. l.)		+
Gerbsäure	+ (W. u.)	+ (W. z. Th. l.)	+ (W l.)	+	+
Neutrales Bleiacetat	+ (U. l.)	0	0		+ m. Ammoniak
Basisches Bleiacetat	+ (U. l.)	0	Trübung	+ (U. l.)	+
Silbernitrat	+ (U. u.)	+ (U. u.)	+ (U. u.)		
Neutral. Eisenchlorid	0	0	0		
Quecksilberchlorid .	+	+ (U. W. u.)	0	+ (U. l.)	+
Alaun	Trübung	0	0		
Adamkiewicz's Reaction	+	+	+	0	0
Kochprobe mit conc. Salzsäure	+	+	+		
Millon's Reaction	+	+	+	+	+
Xanthoproteïnsäurereaction	+	+	+	+	+
Biuretprobe	+	+	+	+	+

Eiweisskörper und ihrer Derivate.

W. l. bedeutet beim Erwärmen löslich.
W. u. „ „ „ unlöslich.
U. W. l. „ im Ueberschuss des Reagenz wie beim Erwärmen löslich.

blieb die Rubrik unausgefüllt.

Keratinose	Keratinpepton	Glutin	Semiglutin	Hemicollin	Spongionose	Spongin-pepton	Chondroit-säure	Onuphin
+ (W. l.)	0	0	0	0	0	0	0	
+ (W. l.)	0	0			0	0	+ frisch gefällt	
+ (W. l.)	0	0			0	0	0	
+ (W. l.)	0	+			0	0	0	
+ (W. z. Th. l.)	+	+	+ (W. z. Th. l.)	+	+	+	0	
+ (W. l.)	+	+	+ (W. l.)	+	+	+ (W. l.)	0	0
+ (W. l. U. u.)	0	0	0	0	+	0	0	
+ (W. l. U. u.)	+ (U. z. Th. l.)	0	0	+	+	+	+	
+	+	0	0	+	+	0	0	
0	0	0	0	0			+	
+ (U. u.)	0	+	+ (W. l.)	+	0	0	0	0
+	0	0			0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0		
0	0	0	0	0	0	0		
+	+	0	0	0	0	0	0	
+	+		schwach		0	0	0	
+	+	+	+	+	+	+	0	

Giebt keine Eiweissreactionen.

ist jetzt auch die Thatsache, dass die Xanthoproteïnsäurereaction ausser jener Tyrosin liefernden Gruppe noch einem Atomcomplexe

sche Probe reagiren, zu erhalten. Ich erinnere daran, dass bezüglich der Piria'schen Probe früher L. Barth (Zur Geschichte des Tyrosins. Sitzungsber. d. math.-nat. Classe der k. Akad. d. Wiss. zu Wien. Bd. 52. Abth. 2. 1865. S. 164) geäussert hat: „Die violette Farbenreaction der sulfotyrosinsauren Salze mit Eisenoxydsalzlösungen ist, wie ich mich überzeugt habe, auch auf Rechnung der Paroxybenzoesäure zu schreiben. Stellt man die Piria'sche, von Staedeler modificirte Tyrosinreaction mit Paroxybenzoesäure an, so erhält man eine dunkelrothe Farbenerscheinung." — Mit voller Deutlichkeit habe ich die Piria'sche Reaction sowohl an Serumeiweiss und Keratin als auch an Fibroin eintreten sehen. Wie die Methode vorschreibt, waren die Substanzen mit conc. Schwefelsäure 20 Minuten lang auf dem Wasserbade erwärmt, die blutrothen resp. gelbbraunen Flüssigkeiten mit Baryumcarbonat neutralisirt und die Filtrate mit sehr verdünnter Eisenchloridlösung versetzt. Damit der violette Farbenton in den gewöhnlich stark alkalischen Proben scharf hervortritt und nicht durch ausgeschiedenes Eisenoxydhydrat verdeckt wird, erwies es sich als zweckdienlich, einen Tropfen reiner Salzsäure vorsichtig, der Wandung des Gefässes entlang, an den Grund der fertig gestellten Probe treten zu lassen. Die Skeletine habe ich auf den Eintritt dieser Reaction nicht geprüft; denn ich gewann die Überzeugung, dass negative Resultate hier wenig besagen, und nur durch die warme Schwefelsäure aus den Eiweissstoffen in Freiheit gesetztes Tyrosin, nicht die Tyrosin liefernde Gruppe im Eiweissmolecül den sehr unsicheren positiven Ausfall der Probe bedingt. Für ein Verständniss des Gelingens und Nichtgelingens der Millon'schen wie mehrerer anderer Reactionen an Eiweiss und seinen einzelnen Abkömmlingen sind diese Befunde von der allergrössten Wichtigkeit; denn sie lehren, dass grobe Täuschungen nicht ausgeschlossen bleiben, wenn man ohne ein ausgiebiges Vergleichsmaterial, allein folgend den chromophoren Gruppen, auf die Anwesenheit der chemisch einfachst zusammengesetzten, reactionsfähigen Körper dieser Art als bedingendes Moment zurückgreift. Es ist zwar gesagt, die Piria'sche Tyrosinprobe sei eine sehr delicate Reaction, welche keine erheblichere Beimengungen gestatte und nur mit ziemlich reinen Tyrosinlösungen gelinge. Ich verstehe nicht, wie eine an die neutrale Beschaffenheit der Lösung so eng geknüpfte und durch ihre Farbe so scharf markirte Reaction durch die gewöhnlichen Beimengungen, welche weder auf Eisenchlorid noch auf Tyrosin reagiren, verdeckt werden soll. Man darf allerdings nicht erwarten, unter solchen Umständen, zumal wenn nur Spuren von Tyrosin zugegen sind, die Flüssigkeit im halben Reagenzrohre gleichmässig violett zu bekommen; bei Anwendung von Serumalbumin oder von Keratin glückte mir das nur wenige Male.

Bei Behandlung mit einer warm bereiteten Molybdänsäurelösung in concentrirter Schwefelsäure nehmen nach Fröhde (Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 145. S. 376) die Albuminstoffe in festem Zustande

zukommt, welcher constanter als jene und ebenfalls aromatischer Natur, aus dem aber kein Tyrosin abzuspalten ist. Dagegen sind die Gründe, welche für die Coincidenz der Biuretreaction des Eiweisses resp. seiner Abkömmlinge mit der Anwesenheit einer Harnstoff bildenden Gruppe angeführt werden konnten, weit weniger bindende. Die Analogieen zwischen der Pepton- und der wahren Biuretreaction waren allerdings auffallende; denn für beide war gezeigt, dass 1. die roth gefärbten Lösungen durch Kohlensäure lasurblau, durch Kalizusatz wiederum roth werden (Brücke), dass 2. dieselben an Substanzen gebunden sind, welche beim Auflösen in kalter conc. Schwefelsäure nicht verändert werden (Brücke);

eine intensiv blaue Farbe an; dieses Blau geht bei den echten Eiweisskörpern, welche die Adamkiewicz'sche Reaction zeigen und dementsprechend schon durch concentrirte Schwefelsäure allein roth oder rothbraun gefärbt werden, bald in letztere Farben über. Am reinsten geben die Reaction diejenigen Albuminoide, welche die Adamkiewicz'sche Reaction nicht eingehen, wie z. B. die Keratine und das Fibroin, sehr schön, aber weniger beständig auch die Elastine. Ausser an allen echten Eiweisskörpern, an den Proteiden und Fibrinpeptonen, der Hemialbumose und den genannten Albuminoiden tritt die Reaction fernerhin an dem Elastoidin auf; am Cornein bleibt sie schwach und verschwindet bald. Glutin, Spongin, Conchiolin und Chitin geben dagegen in reinem Zustande bei Behandlung mit Fröhde's Reagenz auch nicht die leiseste Andeutung des Auftretens eines blauen oder bläulichen Farbentones; durch die Schwefelsäure nehmen diese Substanzen erst nach kürzerer oder längerer Zeit eine Verfärbung in's Röthliche oder Rothbraune an. Im Bereiche der Eiweissstoffe und ihrer Derivate deckt sich somit die Fröhde'sche vollkommen mit der Millon'schen, nicht mit der Xanthoproteinsäurereaction, obschon sie in ihrer allgemeinen Verbreitung eher der letzteren als der ersteren an die Seite zu stellen ist; denn nicht nur die einfach (Phenol, Salicylsäure, Salicin, Tyrosin), sondern auch die mehrfach (Brenzkatechin, Hydrochinon, Gallussäure) hydroxylirten Benzolderivate nehmen bei Behandlung mit Fröhde's Reagenz neben violetten, rothen, grünen und gelben Färbungen eine azurblaue Farbe an, während die Reaction an aromatischen Verbindungen mit nicht hydroxylirtem Benzolkerne (Benzoesäure, Hippursäure und Nitrobenzol) wie am Trinitrophenol und an den Fettkörpern versagt. Unter allen, von mir mit Fröhde's Reagenz geprüften chemisch reinen Substanzen erwies sich bei keiner das Blau so rein und beständig als beim Tyrosin; doch lässt sich mit derartigen Thatsachen bei den Eiweissreactionen wenig rechnen. Beweist doch auch das Nichteintreten der Fröhde'schen Reaction am Glutin, dass das Gelingen der Xanthoproteinsäurereaction an diesem nicht, wie man versucht sein könnte anzunehmen, auf die Anwesenheit eines mehrfach hydroxylirten Benzolderivates bezogen werden darf.

dass 3. das Spectrum der Reaction in beiden Fällen das nämliche ist (Hewlett Brown). Hierzu kommt noch, dass die rothen Reactionsproducte durch Alkohol nicht gefällt werden und diffusibel sind (Krukenberg). Das Diffusionsvermögen für vegetabilisches Pergamentpapier theilt aber nur die Pepton- mit der wahren Biuretreaction; die an reinen Eiweiss- und Albumoselösungen durch Kali- und Kupfersulfat erzielten rothen Farbstoffkörper sind indiffusibel und so leicht von jenen zu unterscheiden.

Nach Brücke soll eine Differenz zwischen der Pepton- und der wahren Biuretprobe darin bestehen, dass der bei ersterer auftretende rothe Farbstoff nicht zur Krystallisation zu bringen ist, während aus der wahren Biuretprobe rothe „auffallend pleurodichroitische Krystalle" auswittern. Ich überzeugte mich indess, dass das rothe Product der Peptonreaction ebenfalls krystallisirt, und gewann die Krystalle auf folgende Weise: Eine wässerige Lösung von viel Fibrinpepton wurde so lange mit Natronlauge und Kupfervitriollösung kalt versetzt, als die Purpurfärbung sich eben noch verstärkte, kein bläulicher Farbenton der Probe auf einen Überschuss an Kupfervitriollösung hinwies. Das dazu erforderliche Reagenzquantum war durch einige Vorversuche leicht ausfindig zu machen gewesen. Darauf wurde die purpurrothe Flüssigkeit mit dem 3 bis 4fachen Volum 90 %igen Alkohols gemischt, 48 Stunden stehen gelassen, filtrirt und im Exsiccator über wenig concentrirter Schwefelsäure verdunstet. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigten sich in dem, während weniger Tage entstandenen rothen Ringe am Rande der Schale neben zahlreichen ungefärbten Nadeln von Natron röthliche Krystalle, welche aus nichts anderem als dem Peptonbiuret bestehen konnten. Die gut ausgebildeten Krystalle lagen vereinzelt neben einander und stellten Prismen mit doppelten oder einfachen, an beiden Enden unter verschiedenen Winkeln aufgesetzten Endflächen dar; am gewöhnlichsten waren sechseckige, dünne Krystallplättchen, die, von oben gesehen, schwach geröthet erschienen und einen intensiveren Farbenton erst bei einer divergenteren Stellung annahmen. Vom Rande des Deckglases hinzutretende Salzsäure löste die Krystalle ohne Kohlensäureentwicklung auf, jeden derselben zu Beginn der Einwirkung in einen öligen Tropfen verwandelnd. Auf demselben Wege liessen sich auch die von Brücke beschriebenen Krystalle aus dem Biuret erhalten, welche mit den Farbstoffkrystallen der Peptonbiuretreaction nicht identisch sind. Dieses kann aber gewiss ebenso wenig überraschen als die missglückten Versuche,

den Farbstoff der Eiweissbiuretreaction in krystallisirter Form abzuscheiden.

Wird eine Eiweisslösung mit Natron und Kupfersulfat gekocht, die purpurfarbige Flüssigkeit mit dem 4fachen Volum absoluten Alkohols gemischt, der entstandene Niederschlag nach einigen Tagen abfiltrirt und das Filtrat über concentrirter Schwefelsäure verdunstet, so stellt sich bald eine Missfärbung der Lösung ein, und es hinterbleiben grünschwarze, von der Unterlage beim Eintrocknen leicht abspringende Schollen mit eigenthümlich blauem Reflexe. Die Verfärbung, welche die Flüssigkeit beim Eintrocknen annimmt, indem sie ihren purpurnen Farbenton mit einem unansehnlich blauschwarzen vertauscht, scheint mir allein schon anzudeuten, dass die an der Unterseite der Schollen regelmässig zu beobachtenden violettblauen Krystallbüschel ein weit abliegendes Zerfallsproduct des Eiweissbiuretes darstellen.

Nimmt man zu allen diesen Erfahrungen über die Biuretreaction noch die rasch eintretende Vermehrung der Harnstoffausscheidung nach gesteigerter Eiweisszufuhr hinzu, berücksichtigt man, dass selbst noch die Skeletine beim Kochen mit Alkalien einen Theil ihres Stickstoffs leicht als Ammoniak entwickeln [1]) (und dass gerade aus dieser Stickstoffabgabe Nasse [2]) schloss, der locker gebundene Stickstoff des Eiweisses sei ähnlich „wie im Harnstoff, in den Aminsäuren und den Säureamiden, d. h. also gebunden in Form von Amid an Carbonyl"), und dass Zufuhr von Ammoniumsalzen die Menge des ausgeschiedenen Harnstoffes vermehrt, so muss die Abhängigkeit des Eintretens der Biuretreaction von der Anwesenheit einer Harnstoff liefernden Gruppe mehr als wahrscheinlich werden. Die Zersetzungsweise des Spongins macht diese Überlegung zur annähernden Gewissheit.

Unter den echten Skeletinen ist keines so sehr zu einer vollständigen und tiefgreifenden Zersetzung disponirt als das Spongin, so widerstandsfähig dasselbe auch im intacten Zustande erscheinen mag. Gelingt es seinen chemischen Bau an einer Stelle zu lockern,

[1]) Aus dem Chitin, welches neben der Glykosidgruppe nur noch den Indol liefernden Atomcomplex führt und die Biuretreaction nicht giebt, entwickelt sich erst beim Eindampfen mit concentrirter Kalilauge reichlicher Ammoniak.

[2]) O. Nasse, Über den Stickstoff der Eiweisskörper. Sitzungsb. der naturf. Gesellsch. zu Halle. 1872. S. 16—19 u. Studien über die Eiweisskörper. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 6. 1872. S. 589—616.

so zerfällt es in sehr einfache Bestandtheile, das ganze Sponginmolecül zerbröckelt gleichsam in die es zusammenfügenden Atomcomplexe. Bei Behandlung mit überhitztem destillirten Wasser erfolgt eine energische Ammoniakentwicklung, Leucin wird nachweisbar, die Anwesenheit von Brenzkatechin und ein intensiver Caramelgeruch deuten auf einen verbrannten Zuckerstoff, welcher, wenn die Erhitzung nicht zu hoch getrieben wurde, sich auch an seinem Reductionsvermögen zu erkennen giebt und selbst im krystallisirten Zustande abgeschieden werden konnte. Die Glykosegruppe ist von allen Atomcomplexen im Spongin am mächtigsten vertreten und damit mag es auch zusammenhängen, dass wir bei den Gummischwämmen statt des Spongins ein Hyalogen antreffen, welches beim Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure nicht weniger als 40% einer krystallisirten Zuckerart liefert, von der ich über 30 gr. besitze, die aber noch der Untersuchung harrt.

Beim Oeffnen einiger mit Spongin und destillirtem Wasser stundenlang über 100° C. erhitzter Röhren hatte ich schon vor einem Jahre einen widerwärtigen Geruch wahrgenommen, der den penetranten Ammoniak- und Caramelgeruch maskirte und an den des Haifischfleisches erinnerte. So kam ich auf den Gedanken, die in dem einen wie dem andern Falle sich bemerkbar machenden übelen Gase mit einer Harnstoffzersetzung in Beziehung zu bringen und wurde in dieser Auffassung noch mehr bestärkt, als ich fand, dass die Biuretgruppe im Sponginmolecül die exponirteste Lage einnimmt und so viele Argumente für deren Harnstoffnatur beigebracht werden konnten.

Als ich nun den Inhalt jener 12 Röhren, welcher mir zugleich zur Darstellung der Spongionose und des Sponginpeptons diente, nach der Neutralisation auf dem Wasserbade eingedampft und mit absolutem Alkohol ausgekocht hatte, erhielt ich aus dem alkoholischen Filtrate einen syrupösen Verdampfungsrückstand, der über conc. Schwefelsäure 2 Wochen stehen blieb und in dem sich dann bei der mikroskopischen Untersuchung neben Leucinknollen spiessige Krystalle zeigten, die zu definiren mir misslang. Anorganischer Beschaffenheit konnten dieselben nicht sein, da das zu den Versuchen verwandte Spongin sich als aschenfrei erwiesen hatte und 1 gr. des alkoholischen Verdampfungsrückstandes nach dem Glühen keine Asche hinterliess.

Eine Probe des alkoholischen Verdampfungsrückstandes wurde in einem Uhrgläschen mit Salpetersäure, eine andere mit Oxalsäurelösung verrieben; in beiden Fällen entstanden Krystallaus-

scheidungen, welche unter dem Mikroskope betrachtet den entsprechenden Harnstoffverbindungen täuschend ähnlich waren. Durch eine so hohe und so lange fortgesetzte Erhitzung mit destillirtem Wasser, wie sie bei der Zersetzung des Spongins von mir angewendet war, sah ich aber sehr erhebliche Harnstoffmengen vollständig dissociirt werden, und falls der alkoholische Verdampfungsrückstand des zersetzten Spongins thatsächlich Harnstoff enthielt, so liess sich dessen Unzersetztbleiben nur durch ein Entstehen desselben am Schlusse der überhitzten Wassereinwirkung erklären; erwies sich das Spongin doch nicht in allen Röhren vollständig gelöst und war, wenn unsere Deutung der Biuretgruppe zutraf, unter günstigen Umständen aus dem Spongin doch auch eine reiche Harnstoffausbeute zu erwarten.

Um diese Erwägungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen, stellte ich mir nochmals reines Spongin dar, füllte 8 Röhren mit je 1 gr. desselben und mit 35—40 cbc. destillirtem Wasser, erhitzte vier derselben aber nur auf 105—110° C., die vier anderen bis auf 120° C. und zwar nicht länger als 6 Stunden. Von dem Spongin war nach dem Erwärmen in einigen Röhren noch viel vorhanden, in anderen weit mehr gelöst, und auch bezüglich der Reaction boten sich Unterschiede; es war unmöglich, bei diesen Versuchen durch Einhaltung derselben Bedingungen einen gleichen Effect zu erzielen. Ich sah deshalb davon ab, den Inhalt der weniger hoch erhitzten Röhren gesondert zu untersuchen oder eine Trennung nach dem schwächeren oder stärkeren Alkalescenzgrade der Inhaltsmassen vorzunehmen und unterzog die Flüssigkeiten aus allen 8 Röhren gemeinsam der Prüfung auf Harnstoff.

Das Filtrat wurde wie bei dem ersten Versuche mit Salzsäure neutralisirt, auf dem Wasserbade zur Syrupsconsistenz eingedickt, mit absolutem Alkohol ausgekocht und das alkoholische Filtrat über Chlorcalcium und conc. Schwefelsäure langsam verdunsten gelassen. Eine Probe des Rückstandes gab wie das erste Mal sowohl mit Salpetersäure als mit Oxalsäurelösung weisse harte Krystallisationen, die von denen der Harnstoffverbindungen in der Art des Ausscheidens und in der Form der einzelnen Krystalltäfelchen, welche zwar erst bei Hartnack IX deutlich hervortraten, nicht abwichen. Der mehrere Gramm betragende alkoholische Verdampfungsrückstand wurde mit etwa 15 cbc. Wasser aufgenommen, filtrirt, das Filtrat in einen Schlauch von Pergamentpapier gefüllt und der Dialyse gegen 60—70 cbc. absoluten Alkohols unterworfen. Nachdem die Dialyse 3 Tage unterhalten

war, wurde das alkoholische Dialysat auf dem Wasserbade eingedampft, der braune Rückstand auf's Neue mit etwas Alkohol aufgenommen, der Rückstand des Filtrates mit Petroläther gewaschen und in Essigäther gelöst. Auf Zusatz von Salpetersäure resp. von alkoholischer Oxalsäurelösung entstanden in dieser Lösung wieder die nämlichen krystallinischen Niederschläge, aber auch keine grössere Krystalltäfelchen als in dem ursprünglichen alkoholischen Verdampfungsrückstände.

Aus diesen Befunden glaube ich auf die Entstehung von Harnstoff bei der Zersetzung des Spongins schliessen zu dürfen, wennschon ich zugeben muss, dass erst das Resultat eines in grösserem Massstabe ausgeführten Versuches, den meine Hülfsmittel nicht anzustellen erlauben, hierüber die nöthige Gewissheit gewähren wird. Entgegen den widersprechenden Urtheilen anderer Autoren (Subbotin, F. Lossen u. A.) hält Béchamp[1]) noch immer an seiner früheren Angabe fest, dass Albumin, ja dass sämmtliche Eiweisssubstanzen bei Behandlung mit Kaliumhypermanganat eine gewisse Menge von Harnstoff liefern. Er dürfte Recht behalten! Ich habe bei den Sponginuntersuchungen ganz den Eindruck empfangen, als ob unter den angegebenen Versuchsbedingungen, wegen der leichten Zersetzlichkeit des Harnstoffes, nur die beim Abbrechen des Versuches entstehenden Mengen dieses Körpers unverändert bleiben und dass deshalb meist wohl nur Spuren davon in unsere Hände gelangen; nicht viel günstiger gestalten sich die Verhältnisse, wenn wir durch andere Mittel als durch überhitztes Wasser spaltend auf die Eiweisskörper einwirken.

„Keine thatsächlichen Gründe existiren," bemerkt Baumann[2]), „welche gegen die Annahme, dass die Atomcomplexe der Spaltungsproducte des Eiweisses im Eiweissmolecül enthalten seien, sprechen, doch giebt es solche, welche für dieselbe geltend gemacht werden können." Dieser kühne Ausspruch — ich erinnere nur an das Indol — wird für die Leucin liefernde Gruppe noch am zutreffendsten sein. In den einfachsten Eiweissderivaten, in welchen dieser Atomcomplex erhalten blieb, im Spongin und Conchiolin, erscheint bei den mannigfachsten Zersetzungsvorgängen das Leucin als constantes Product und Vorstufen desselben sind lediglich in

[1]) Dumas, Rapport sur le Mém. relatif aux matières albuminoides, présenté à l'Acad. par M. A. Béchamp. Compt. rend. T. 94. 1882. p. 1281.

[2]) E. Baumann, Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 29. 1882. S. 419.

Producten gegeben, welche sich von der Muttersubstanz nur in den Löslichkeitsverhältnissen unterscheiden, der elementaren Zusammensetzung nach von jener in kaum bestimmbarer Weise abweichen dürften. Einen besonderen Hinweis verdient jedenfalls auch der Umstand, dass aus Eiweiss und den verdaulichen Eiweissderivaten Leucin (ebenso wie das Tyrosin) schon durch die blosse Einwirkung der Enzyme abgesplissen wird. Die geringen Mengen von Leucin, welche gegenüber den Zersetzungsproducten des Zuckerstoffes noch das auf wenige unterscheidbare Atomcomplexe reducirte Spongin bei einer gelungenen vollständigen Spaltung liefert, lässt die Mächtigkeit der Leucin bildenden Gruppe im Eiweissmolecül gering erscheinen. Quantitative Bestimmungen des bei Zersetzung verschiedener Eiweiss- und eiweissartiger Stoffe auftretenden Leucins sind von mir zwar mehrfach unternommen, führten aber zu keinem befriedigenden Resultate. Denn einerseits war das Leucin von dem Tyrosin nicht genügend zu trennen, und andererseits blieb der grösste Theil desselben mit den Peptonen vereinigt. Dieser Schwierigkeiten sind auch andere Untersucher nicht Herr geworden, und die z. B. von Erlenmeyer und Schoeffer quantitativ bestimmten Leucinmengen geben uns schon aus diesem Grunde kein Bild von der Betheiligung der Leucin bildenden Gruppe am Aufbau des Eiweissmolecüles.

Hinsichtlich der Indol liefernden Gruppe liegen die Dinge wesentlich anders. Die Indolentwicklung aus dem Chitin lässt sich nach der für diese Substanz ziemlich gesicherten empirischen Formel nur unter gleichzeitigem Austritt von Ammoniak verstehen, welcher bei dem Versuche in der That in reichlichem Masse statt hat.

Nachdem von mir [1]) zuerst gezeigt wurde, wie aus Substanzen (Hyalogene), die in den entscheidenden Farbenreactionen den Eiweisskörpern durchaus gleichen, Kohlehydrate abgespalten werden können, und durch überhitztes Wasser aus jenen ebenso wie aus reinen Kohlehydraten Brenzkatechin in Freiheit zu setzen ist [2]), nachdem ich [3]) (später auch Paschutin [4])) auf die pathologische Kohlehydratentartung der Gewebe aufmerksam gemacht und die-

[1]) Ueber die Hyaline. Würzburg 1883.

[2]) Zeitschr. f. Biologie. Bd. 22. 1885. S. 269.

[3]) Chondrin und Chondroitsäure. Sitzungsb. d. physik.-medic. Ges. zu Würzburg. 1884. S. 19—23.

[4]) V. Paschutin, Centralbl. f. d. medic. Wiss. 1884. S. 689—695 und Wratsch. 1884. No. 30.

selbe zu erklären versucht habe, in Uebereinstimmung damit schon früher von Külz[1]) gefunden war, dass bei einem schweren Diabetiker 1240 gr. eingeführten Caseïns etwa 360 gr. Harnzucker entsprechen, und mir[2]) schliesslich auch die Trommer'sche Zuckerprobe an allen echten Eiweisskörpern gelang[3]), wird die Anwesenheit einer äusserst resistenten Kohlehydratgruppe im Eiweiss und eine einfache Abspaltung derselben unter pathologischen Verhältnissen wohl nicht mehr in Zweifel gezogen. Alle Bemühungen, die Fette in der nämlichen einfachen Weise vom Eiweiss abzuleiten und sie in diesem präformirt zu finden, sind dagegen vollständig gescheitert; zu ihrer Bildung bedarf es sicherlich eines synthetischen Vorganges, wie wir dementsprechend Fettbildung aus Eiweiss unabänderlich an die Function lebender Zellen gebunden sehen. Während es uns geglückt ist, das Eiweissschema künstlich bis zum Keratin abzubauen, ja aus Eiweiss selbst Derivate künstlich erhalten wurden, an denen zugleich auch die Millon'sche Reaction versagt, und Zucker wie dem Gummi ähnliche Substanzen aus Eiweiss jetzt mehrfach abgespalten wurden, lässt sich der fettigen Metamorphose des Eiweisses allein erst die Eiweissbildung aus Leim und Tyrosin (T. Escher und L. Hermann) als eine besser durchsichtige Synthese an die Seite stellen[4]). Man

---

[1]) E. Külz, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 6. 1877. S. 140—142.

[2]) Centralbl. f. d. medic. Wiss. 1885. S. 609 u. 610.

[3]) Ich vermag meine Verwunderung darüber nicht zu unterdrücken, dass Worm-Müller, der bei seinen zahlreichen Zuckerbestimmungen wiederholt (vgl. z. B. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 27. 1882. S. 54, 79, 90 etc.) zu dem v. Babo'schen Verfahren griff, niemals, auch nur der Controlle wegen, dasselbe an Eiweissstoffen versucht hat. Noch in einer seiner letzten Abhandlungen (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 35. 1885. S. 104) bezeichnet er das Eiweiss als eine „nicht reducirende Substanz."

[4]) So lehrreich es auch sein würde, die Veränderungen des Alkalispongins und der Spongionose im thierischen Organismus und ihren relativen Nährwerth zu erfahren, so wird die Ausführung derartiger Versuche wegen der geringen Ausbeute an diesen Stoffen doch noch zu sehr erschwert. Trotzdem ich über 100 gr. Spongin mit Barytwasser zersetzte, gewann ich von den Körpern nicht so viel, um eine Elementaranalyse derselben mit Aussicht auf Erfolg unternehmen zu können. Es bilden sich, wie ich bereits hervorhob, aus dem Spongin zu leicht die Endproducte der Umsetzung, und unter der Baryteinwirkung nicht langsamer als unter der des überhitzten Wassers.

war sich wenig bewusst, dass eine gelungene Synthese verkündet wurde, als man dem Glutin die Millon'sche Reaction absprach, dem Semiglutin dieselbe zugestand. Doch Alles was man künstlich mit den Eiweisskörpern vorzunehmen wusste, beschränkt sich auf Zerstückelungen ihres Molecüls und auch nicht zwei solcher Fragmente verstand man wieder zusammenzufügen.

Jena, d. 28. Dec. 1885.

Zur Beurtheilung des Nährwerthes der sogenannten Leube-Rosenthal'schen Fleischsolution.

In Folge von Untersuchungen über die Spaltung der Eiweisskörper durch überhitztes Wasser wandte sich mein Blick einem käuflichen Präparate zu, welches nach Leube's Vorschrift[1]) aus frischem Rindfleisch durch stundenlanges Erwärmen mit 2 %iger Salzsäure auf 110—120° C. dargestellt wird, und welches „wie die massenhaften Bestellungen" in den, mit seiner Herrichtung betrauten Apotheken beweisen, „in kürzester Zeit in ganz Deutschland wie im Auslande Anwendung gefunden hat". Ich meine die sog. Leube-Rosenthal'sche Fleischsolution, bei „deren Bereitung die Peptonisirung mindestens so weit getrieben" sein soll, „als dies im Magen möglich ist" (Rosenthal), welcher man „einen starken Peptongehalt" zuschreibt und von der man annimmt, dass sie „grösstentheils als solche einfach resorbirbar" (Leube) sei.

Seitdem uns Kühne[2]) belehrt hat, dass unter den käuflichen, von Kühne in dieser Hinsicht geprüften Peptonen nur das durch Trypsinverdauung gewonnene Präparat von Sanders-Ezn zum grössten Theile aus wirklichem Pepton (Antipepton) besteht, dagegen das Grübler'sche, zwar noch als peptonhaltig zu bezeichnen, doch schon weit reicher an Albumosen ist, das

---

1) W. O. Leube, Ueber eine neue Art von Fleischsolution als Nahrungs- und Heilmittel bei Erkrankungen des Magens. Berliner klinische Wochenschr. 1873. No. 17. S. 193. — Vgl. auch: Leube, Sitzungsber. d. physik.-medic. Societät zu Erlangen. Heft 4. 1872. S. 85; Rosenthal, ebenda. Heft 5. 1873. S. 129; Leube, Ueber die Therapie der Magenkrankheiten. R. Volkmann's Sammlung klinischer Vorträge. No. 62. 1873.

2) Kühne, Albumosen und Peptone. Sep.-Abdr. a. d. Verhandl. d. naturh.-medic. Vereins zu Heidelberg. N. F. Bd. 3. Heft 4. 1885.

Witte'sche Pepton nur Spuren von Pepton führt und die sog. Fleischpeptone von Kemmerich und Kochs[1]) „keine Spur Pepton enthalten", war ein bedeutender Peptongehalt der sog. Fleischsolution für den, welcher die Resistenz der Muskelalbumine gegen Säuren kennt, schon von vorn herein sehr unwahrscheinlich geworden. Ich weiss nun zwar aus eigenen Erfahrungen, dass man bei genauer Einhaltung der Leube'schen Vorschrift auf einem allerdings umständlichen Wege etwas mehr Albumosen und Peptone gewinnen kann als die käuflichen Präparate aufweisen; aber, wie ich denke, interessiren den Arzt und das Publikum ausschliesslich die letzteren, welche durch die Empfehlungen ihrer Erfinder und anderer namhafter Kliniker jetzt den Markt beherrschen. Die folgenden Analysen, welche keiner weitern Interpretation bedürftig sind, werden zeigen, was von der viel gepriesenen Löslichkeit und leichten Resorbirbarkeit dieser unappetitlichen Massen in Wirklichkeit zu halten ist.

I. „Verbesserte Leube-Rosenthal'sche Fleischsolution", bereitet von R. Stütz (Dr. R. Mirus'sche Hofapotheke) in

---

1) Bezüglich der beiden in den Handel gebrachten Fleischpeptone sei Folgendes bemerkt: Albumosen wie Peptone nehmen, wenn sie aus reinen Eiweissstoffen (z. B. aus Fibrin oder Serumalbumin) dargestellt sind, mit voller Deutlichkeit einen purpurvioletten Farbenton an, sowohl bei Ausführung der Kochprobe mit conc. Salzsäure wie auch bei der Adamkiewicz'schen Reaction. Sind dagegen in der Lösung noch erheblichere Quantitäten von Collagenderivaten (Glutin, Semiglutin, Hemicollin) vorhanden, so wird der Purpur durch eine braungelbe Farbe leicht ganz verdeckt. Bei Anstellung dieser Reactionen tritt nun die Purpurfärbung weder an dem Kemmerich'schen noch an dem Kochs'schen Peptone deutlich hervor, und zwar lediglich deshalb, weil beide Handelsartikel sehr viel von den sog. Leimpeptonen enthalten; die Millon'sche Probe gelingt mit beiden gleich gut, und ihr intensives Eintreten bekundet, dass die Präparate nicht gerade als arm an echten Albumosen zu bezeichnen sind. Ich glaube nach meinen Erfahrungen über die Einwirkung von überhitztem Wasser, Säuren und Alkalien auf frisches Rindfleisch und nach meinen Analysen der beiden Präparate nicht fehlzugehen, wenn ich vermuthe, dass das Kemmerich'sche Pepton durch einfache Ueberhitzung des Fleisches, das Kochs'sche hingegen durch Behandlung des Fleisches mit verdünnter Natronlauge resp. Sodalösung dargestellt wird. Beide Präparate bestehen (insofern es sich nicht um reine Spaltungsproducte des Collagens handelt) vorwiegend aus Producten tiefgehenderen Eiweisszerfalles und verdienen deshalb meines Erachtens keine Empfehlung, wennschon den viel gerügten, durch den hohen Salzgehalt (Natriumphosphat?) veranlassten

Jena. Von Leube[1]) allein empfohlen und auf der Ausstellung für Gesundheitspflege in Brüssel 1876 prämiirt.

Die Blechbüchse enthielt etwas mehr als 120 gr. eines unansehnlichen, mit Fleischkrümeln untermischten Breies, und der Preis derselben betrug 95 Pfg., — viel Geld für das, was dem Käufer darin geboten wurde.

119 gr. dieser sog. Fleischsolution wurden mit Wasser ausgekocht, die Flüssigkeit nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure filtrirt, der Rückstand auf dem Filter mit siedendem Wasser ausgewaschen und die vereinigten Filtrate durch Eindampfen auf dem Wasserbade concentrirt. Der etwa 80 cbc. betragende Verdampfungsrest wurde mit neutralem Ammoniumsulfat gesättigt, die sich dabei ausscheidenden, bräunlich gefärbten Flocken und das ungelöst gebliebene Ammoniumsalz abfiltrirt, mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung nachgewaschen und die Filtrate so lange mit immer neuen Mengen gesättigten Barytwassers auf dem Wasserbade eingedampft, als ein weiterer Barytzusatz keinen Niederschlag bewirkte und der Verdampfungsrest kein Ammoniak mehr entwickelte. Darauf wurde letzterer Rückstand mit heissem Wasser verrieben, das Baryumsulfat abfiltrirt, mit siedendem Wasser vollständig ausgelaugt und die durch Eindampfen concentrirten Filtrate durch Einleiten und Schütteln mit Kohlensäure von dem Baryt befreit. Das Filtrat von der Baryumcarbonatfällung wurde eingedickt, der Syrup mit wenig kaltem Wasser aufgenommen, die dabei ungelöst zurückgebliebenen reinen Mineralsalze abfiltrirt, das Filtrat in einem Uhrgläschen zuerst auf dem Wasserbade und später tagelang über conc. Schwefelsäure getrocknet.

Das Gewicht des Rückstandes betrug 3.762 gr., und es repräsentirte derselbe einen grossen Theil der in Arbeit genommenen 119 gr. Fleischsolution an löslichen Salzen sowie deren Gesammtgehalt an Fett, Peptonen, Kreatin, Hypoxanthin u. dgl. m. An wasserfreien alkoholischen Aether gab diese Masse 0.787 gr. fettiger Stoffe ab und hinterliess 1.604 gr. Asche.

Setzen wir voraus, dass die 119 gr. der Fleischsolution der nämlichen Gewichtsmenge frischen Fleisches entsprochen haben, so würden für die sog. organischen Extractivstoffe (Kreatin, Hy-

---

Nachtheilen des Koch's'schen Präparates verhältnissmässig leicht abzuhelfen wäre.

1) Leube, Ueber die Therapie der Magenkrankheiten, a. a. O., S. 513 Anm.

poxanthin etc.) mindestens noch 0.1 gr. in Abrechnung zu bringen sein, und es können demnach in dem ganzen Rückstande unmöglich mehr als 1.271 gr. Peptone zugegen gewesen sein. Berücksichtigen wir ferner, dass ein Theil der Alkalien in dem Trockenrückstande als Carbonate, in der Asche dagegen als Oxyde gewogen wurde, so ergiebt sich schon ein weiterer Gewichtsausfall zu Ungunsten des Peptongehaltes, und aus der Stärke des Eintretens der Biuretreaction glaube ich schliessen zu müssen, dass in dem ganzen Topfe auch nicht 2 centigr. Peptone vorhanden gewesen waren.

Die sich beim Sättigen der filtrirten wässrigen Auskochung der Fleischsolution ausgeschiedenen Flocken wurden nach dem Auswaschen mit conc. Ammoniumsulfatlösung von den anhaftenden Salzkrystallen möglichst vollständig befreit, in siedendem Wasser gelöst, die Lösung in einen Schlauch aus vegetabilischem Pergamentpapier gefüllt und gegen destillirtes Wasser dialysirt. Die Dialyse wurde 48 Stunden fortgesetzt, dabei (um jeder Fäulniss vorzubeugen) der Schlauchinhalt nach je 15 Stunden aufgekocht und das umgebende Wasser zweimal gewechselt. Die im Schlauche zurückgebliebene Flüssigkeit lieferte 2.36 gr. festen Rückstand, in welchem zwar noch Ammoniumsulfat (aus 2 Schwefelbestimmungen ergab sich für die 2.36 gr. Trockenrückstand ein Gehalt von 0.49 resp. 0.54 gr. an diesem Salze), aber keine grössere Glutinmenge nachzuweisen war, und der vorzugsweise aus in kaltem Wasser leicht löslichen Albumosen bestand; der Gehalt der Fleischsolution an diesen ist demnach gleichfalls ein unerwartet geringer, beziffert sich den obigen Angaben gemäss nicht höher als 1.87 gr. und wird durch die, mit dem Ammoniumsulfat durch die Schlauchwandung diffundirten Albumosenmengen (nach Herrn Geheimrath Kühne's gütiger Mittheilung vornehmlich Deuteroalbumose) nicht sonderlich gehoben. Um letztere zu finden, wurden die drei zur Dialyse benutzten Wasserportionen auf dem Wasserbade eingedampft, der wenig organische Substanz einschliessende Rückstand (4.74 gr. an Gewicht) mit Salpeter und Soda zersetzt, die Schmelze in destillirtem Wasser gelöst und zur Schwefelsäurebestimmung in zwei gleiche Volumina getheilt. Bei der ersten Schwefelsäurebestimmung wurden 6.087 gr. Baryumsulfat (0.836 gr. Schwefel) = 3.45 gr. neutr. Ammoniumsulfat, bei der zweiten 7.937 gr. (1.09 gr. Schwefel) = 4.16 gr. Ammoniumsulfat gefunden, und es würden hiernach der im Schlauchdialysor rückständig gebliebenen Albumosemenge von 1,87 gr. noch 0.94 gr. diffundirte

zu addiren sein, sodass sich jetzt der Albumosegehalt der 119 gr. Fleischsolution auf ca. 2.81 gr. stellen würde.

II. Ein ganz ähnliches Präparat in derselben Verpackung und unter der nämlichen Bezeichnung wie I. wird von Hüffner's Hof- und Rathsapotheke (R. Wahrburg) in Jena in den Handel gebracht. Die Probe, welche mir zum Vergleiche vorlag, bot wegen des grösseren Fettgehaltes, der zahlreichen Knoten und seiner schmutzig grauen Farbe nur ein noch weniger einladendes Aeusseres dar als das Stütz'sche Fabrikat und war, wie die in analoger Weise ausgeführte Analyse beweist, auch weniger sorgfältig zubereitet. Die Büchse wog 253 gr., und ihr Inhalt sollte $^1/_2$ Pfund reinen Fleisches entsprechen.

161 gr. der Fleischsolution wurden mit siedendem Wasser unter Essigsäurezusatz ausgekocht, das auf 70 cbc. concentrirte Filtrat mit Ammoniumsulfat gesättigt, die dadurch ausgefällten Albumosen abfiltrirt, mit saturirter Ammoniumsulfatlösung nachgewaschen, das Filtrat in oben angegebener Weise mit Barytwasser eingedunstet, der Rückstand mit siedendem Wasser ausgelaugt, von Baryt und anderen Mineralbestandtheilen befreit und die peptonhaltige Trockensubstanz alsdann gewogen. Ihr Gewicht belief sich auf 3.275 gr., wovon jedoch nicht weniger als 1,341 gr. für Fett, 1.507 gr. für Aschenbestandtheile und mindestens 0.15 gr. für die organischen Extractivstoffe in Abzug zu bringen sind, so dass für die Peptone nur noch 0.277 gr. übrig bleiben würden. Allein entscheidend für den Peptonnachweis ist ausschliesslich die Biuretprobe, und diese zeigte in dem Rückstande nur die Anwesenheit von Spuren dieser Körper an.

Die 48 Stunden lang der Dialyse gegen destillirtes Wasser unterworfen gewesene Albumoselösung hinterliess 4.702 gr. festen Rückstand, welcher sich gemäss der Schwefelsäurebestimmung aus 1.672 gr. Ammoniumsulfat (= 0.405 gr. Schwefel oder 2.949 gr. Baryumsulfat) und aus 3.03 gr. Albumosen zusammensetzte, jedoch weit mehr leimte als das aus dem vorigen Präparate gewonnene Product. Der Verdampfungsrest der Dialysate (5.461 gr.) bestand dagegen aus 4.887 gr. Ammoniumsulfat (= 1.185 gr. Schwefel oder 8.628 gr. Baryumsulfat) und aus 0.575 gr. Albumosen. In den 161 gr. Fleischsolution waren somit nur 3.605 gr. Albumosen anwesend.

So sehr ich es auch missbilligen muss, dass, seitdem O. Nasse[1]) den gravirenden Unterschied zwischen den Acidalbu-

1) O. Nasse, Sitzungsber. d. naturf. Gesellsch. zu Halle. 1873. S. 31.

minen und den Albumosen resp. Peptonen dargethan und Kühne[1]) brauchbare Methoden zur Auffindung und Trennung letzterer Substanzen angegeben hat, die an dem Verkaufe der Fleischsolution wenigstens zu Anfang mitbetheiligten Erfinder nicht durch eigene Untersuchungen den weiten Interessentenkreis über ihr Präparat aufzuklären versuchten, sondern vielmehr warteten, bis von anderer Seite die ganze Gehaltlosigkeit ihres Unternehmens aufgedeckt wird, so will ich mich doch gegen die etwaige Annahme verwahren, dass auch die klinischen Erfolge, welche Leube mit der sog. Fleischsolution erzielt zu haben angiebt, rein illusorische sind. Wie ich mich überzeugt habe, wird jene unter der Säureeinwirkung entstandene Muskelgallerte von Pepsinsalzsäure äusserst schwer angegriffen, von alkalischer Trypsinlösung hingegen verhältnissmässig rasch verdaut, und es liegt demnach gewiss nichts näher als anzunehmen, dass wenn „wie hier, die Speise an Weichheit einem feinen Schlamme gleichkommt, der mechanische Reiz, den andere Nahrungsmittel durch die Reibung an den Wänden des Magens auf die Schleimhaut desselben ausüben, beim Genuss der Fleischsolution ganz und gar wegfällt". Wenn nun aber Leube fortfährt, dass „das Gebiet der Krankheiten, in welchen die Fleischsolution mit Nutzen gereicht wird, selbstverständlich nicht nur das enge Gebiet der Magenkrankheiten sei, sondern dass überall, wo uns daran liegen muss, den Verdauungsorganen eine absolut reizlose Nahrung zuzuführen, wo Gefahr von starker Arbeit des Darmcanales oder von der mechanischen Reizung seiner Wände durch die Ingesta droht, die Darreichung der Fleischsolution am Platze sein werde", so ist das meines Dafürhaltens eine irrige Vorstellung, die eben durch den angeblichen mehr oder minder starken Gehalt an Peptonen, deren Nährwerth überdies noch ein sehr problematischer ist[2]), erweckt wurde. Aus dem Umstande, dass die Muskelgallerte von dem pankreatischen Secrete eigentlich allein verdaut wird, muss vielmehr geschlossen werden, dass diese der Darmverdauung und der Darmresorption weit grössere Arbeit verursacht als die Nahrungsmittel, welche schon vom Magensafte energischer angegriffen werden, und ich halte deshalb die Fleischsolution auch nur für verwerthbar bei Magenleiden. Um ein Präparat für diesen Zweck zu gewinnen, braucht

1) Kühne, a. a. O.

2) Vgl. z. B. C. v. Voit, Physiologie des allg. Stoffwechsels und der Ernährung. Hermann's Handbuch der Physiologie. Bd. 6. Th. 1. Leipzig. 1881. S. 394.

man aber nicht das umständliche Verfahren von Leube einzuschlagen, sondern, wie zahlreiche Versuche mich lehrten, genügt es, das mit Wasser kalt angesetzte und ausgekochte Fleisch nachträglich noch kurze Zeit mit einer 2 %igen Salzsäure in einem emaillirten Gefässe über freiem Feuer unter beständigem Umrühren zu kochen, die entstandene gleichmässige Gallerte auf ein feines Haarsieb oder Muletuch zu bringen, hier mit kaltem Wasser auszuwaschen und schliesslich den Fleischgelée durch die Maschen des Siebes oder der Gaze hindurchzuschlagen. Auf diesem Wege erhält man ein weit billigeres Präparat von genau denselben günstigen Wirkungen, genau dem nämlichen physiologischen Werthe als das in den Handel gebrachte; jenes bietet überdies den in vielen Fällen gewiss nicht hoch genug zu veranschlagenden Vorzug der ursprünglichen Reinheit (Abwesenheit von zugesetzten Säuren und Salzen) dar, und seine Bereitung lässt sich in die Hand eines jeden beliebigen legen.

25 gr. unserer Fleischgallerte mit 3 cbc. einer 20 %igen Kochsalzlösung gemischt erhielt sich in einem irdenen Topfe, ohne sorgfältigen Verschluss bei Zimmertemperatur aufbewahrt, nahezu 8 Tage feucht, roth und durchaus unzersetzt, während unter den nämlichen Bedingungen das Wahrburg'sche Präparat schon nach 2, das Stütz'sche nach 3—4 Tagen übel riechende Gase entwickelte. Noch zweckmässiger dürfte es für die Aufbewahrung sein, die Säure aus der Fleischgallerte erst dann auszuwaschen, wenn dieselbe genossen werden soll. Ohne vorausgegangene Extraction mit Alkohol und Aether lassen sich Fleischreste in einer für uns Menschen geniessbaren trockenen Form überhaupt nicht conserviren, und es empfiehlt sich schon aus diesem Grunde nicht, die Fleischgallerte als feines Pulver, in welches dieselbe durch Trocknen zwar leicht überzuführen ist, verabreichen zu lassen.

Jena, d. 25. Februar 1886.

Kritische Bemerkungen über neuere Peptonpräparate des Handels.

Den fabrikmässig dargestellten neueren Peptonpräparaten, welche ihren Namen ausnahmslos mit mehr oder minder grossem Unrechte führen, sind Begleitschreiben angehängt, welche mannigfache Irrthümer enthalten und um so dringender zu einer Richtigstellung auffordern als jene Unrichtigkeiten von den jeweiligen Erfindern dazu benutzt werden, unübertroffene Eigenschaften und Vorzüge des eigenen Fabrikates einer kritiklosen Menge vorzuspiegeln. Ich komme hier nicht auf das zurück, was ich kürzlich, als ich mir erlaubte, ein Urtheil über den Nährwerth der sogenannten Leube-Rosenthal'schen Fleischsolution abzugeben (vgl. S. 50—56), ausdrücklich betonte oder was dort als selbstverständlich zwischen den Zeilen herauszulesen ist; ich beschränke mich ferner hier auf den einfachen Hinweis, dass der Nährwerth eiweisshaltiger Nahrungsmittel keine derartige quantitative Bestimmungen wie etwa der Salzgehalt des Friedrichshaller Bitterwassers oder des Harzer Sauerbrunnens zulässt, und dass deshalb auch die physiologischerseits sehr unzeitgemässen Analysen, welche R. Fresenius, J. Koenig, A. Stutzer etc. für recht viel Geld oder für sehr warme Worte in die Oeffentlichkeit gelangen liessen, zwar verblendend wirken, in Wahrheit aber absolut null und nichtig sind. Ich will hier lediglich Thatsachen anführen, welche sehr wenig bekannt zu sein scheinen, obschon ein Jeder, der sich über den Nährwerth der vermeintlichen käuflichen Peptone ein Gutachten anmaasst, dieselben selbst beobachtet haben sollte.

Th. Weyl[1]) sagt, das Pepton schmecke um so schlechter, je reiner es dargestellt werde und je gehaltreicher die Peptonlösung sei. Aehnliches habe auch Zuntz beobachtet, und da das Weyl'sche Präparat sich nun als zu peptonreich erwies, musste es durch Fleischextract künstlich verunreinigt werden. Hier liegen Täuschungen vor! Beide aufgeführten Forscher scheinen nur durch Säure-, Natron- oder Trypsineinwirkung entstandene Peptone resp. peptonartige Spaltungsprodukte, nicht aber die Pepsinpeptone näher zu kennen. Ich bewahre mehrere Trockenpräparate auf, die ungleich reicher an wahren Peptonen (Hemipeptonen) sind als das reine, mit Fleischextract noch unversetzt gebliebene „Weyl-Merck'sche Caseinpepton", welches, wie Weyl meint, seines übergrossen Peptongehaltes wegen zum Geniessbarwerden einen Zusatz von Fleischextract unbedingt nothwendig werden lässt; meine Präparate, frei von Amidosäuren, künstlichen Zuthaten und irgendwelcher Art von Leimpeptonen, zeichnet indess nur ein fader Geschmack aus, sie erwecken nicht (wie z. B. die Peptone von Sanders-Ezn) die Vorstellung nach Erbrochenem, besitzen nichts von der Bitterkeit des Weyl-Merck'schen Fabrikates, sind durchaus geruchlos, geschweige dass sie einen so durchdringenden Geruch nach altem Käse entwickeln als das Weyl-Merck'sche Caseinpepton. Die angeführten unerwünschten Eigenschaften käuflicher Peptone haften meinen Erfahrungen gemäss nur den, bei einer Trypsinverdauung entstehenden Antipeptonen und gewissen peptonähnlichen Zerfallsprodukten des Collagens, nicht aber den bei reiner Pepsinverdauung ausschliesslich entstehenden Hemipeptonen an.

Weyl berichtet ferner über sein Präparat, es sei das peptonreichste, welches überhaupt in den Handel gebracht wurde. In der käuflichen Form des Caseinpeptons (also mit Fleischextract versetzt) sollen enthalten sein: 68.44% Pepton, von Eiweiss, Hemialbumose und ähnlichen Zwischenprodukten nur Spuren, von organischen Stoffen, welche kein Eiweiss und Pepton sind, 15%. Um mir eine eigene Anschauung von dem Werthe dieser Angaben zu verschaffen, erbat ich mir von E. Merck in Darmstadt 200 gr. des Weyl'schen Peptons, welches noch nicht mit Fleischextract vermischt war.

---

1) Th. Weyl, Berliner klinische Wochenschrift. 12. April 1886. Nr. 15. S. 236—238.

Mit Hinterlassung weniger metallisch glänzender Flitterchen, welche ich nicht näher geprüft habe, die aber vielleicht nur zufällig bei der Darstellung als Verunreinigungen in das Präparat hineingelangt waren, löste sich das gelblichweisse Pulver in lauwarmem Wasser leicht und vollständig zu einer warm gut filtrirbaren, trüben, gelbbraunen Flüssigkeit auf. Zum Zwecke der Untersuchung auf Albumosen und Peptone wurden 50 gr. des Pulvers in 235 cbc. destillirtem Wasser gelöst, bei der Ausfällung der Albumosen durch neutrales Ammoniumsulfat und bei der nachträglichen Beseitigung des zugesetzten Ammoniumsalzes aus der Albumose- wie Peptonlösung in genau der nämlichen Weise verfahren als es früher (S. 52 und 53) von mir ausführlich beschrieben worden ist.

Es zeigte sich nun, dass das Weyl'sche Caseinpepton vorwiegend aus Albumosen besteht, aus Albumosen jedoch, welche weit mehr den Stempel echter Eiweissderivate an sich tragen als die grösstentheils nur aus Leimpeptonen bestehenden Kemmerich'schen und Kochs'schen Artikel. Caseinoseproben, in Wasser gelöst, geben mit voller Deutlichkeit sowohl eine haltbare Violettfärbung bei Ausführung der Adamkiewicz'schen Reaction — was (wenigstens bei Einhaltung der von Hammarsten vorgeschlagenen Modification der Probe) die beiden käuflichen Fleischpeptone entgegen der Angabe Salkowski's[1]) entschieden nicht thun — als auch eine beständige und reine Röthung beim Kochen mit concentrirter, roher Salzsäure. Das unverdeckte Eintreten dieser beiden Reactionen zeichnet das Weyl'sche Präparat vor dem Kemmerich'schen wie Kochs'schen in sehr vortheilhafter Weise aus. Eine von mir ausgeführte quantitative Bestimmung lässt auf einen Albumosegehalt von circa 50% schliessen.

Der Auffassung Kühne's entsprechend sind unter der Bezeichnung Albumosen diejenigen enzymatischen Eiweissproducte zu verstehen, welche beim Sättigen der wässrigen Lösung mit Ammoniumsulfat in festem Zustande abgeschieden werden. Dass die Ammoniumsulfatfällung in unserem Falle aber nur Spuren von Hemialbumose führt, hatte bereits Weyl richtig erkannt; er sah in der sauer reagirenden, 5%igen Lösung seines Präparates durch Essigsäure + Ferrocyankalium sowie durch Salpetersäure nur minime Trübungen auftreten, welche beim Erwärmen verschwanden

1) E. Salkowski, Ueber das Kochs'sche und Kemmerich'sche Fleischpepton. Centralbl. f. klinische Medicin. 1885. Nr. 7.

und beim Abkühlen wiederkehrten. Gesättigte Kochsalzlösung + Essigsäure riefen ebenfalls nur eine kaum bemerkbare Trübung hervor. Der negative Ausfall dieser Reactionen berechtigt unter Heranziehung der Nichtgerinnbarkeit beim Kochen und des „sehr starken" Eintretens der Biuretprobe jedoch keineswegs zu dem von Weyl gezogenen Schlusse, dass der in gesättigter Ammoniumsulfatlösung entstehende „sehr starke Niederschlag" fast ausschliesslich aus Peptonen besteht. Dass letzteres nicht der Fall ist, lehrt das Verhalten der Weyl'schen Caseinpeptonlösung zu einigen anderen Reagentien.

Die Lösungen, an welchen ich operirte, gaben mit Essigsäure + Ferrocyankalium, mit Salpetersäure nur die von Weyl erkannten höchst unbedeutenden Trübungen, desgleichen auch auf Zusatz von Metaphosphorsäure und Essigsäure; Alaun, Chlorbaryum, Kaliumdichromat veranlassten nicht die geringsten Trübungen; Gerbsäure, Phosphormolybdänsäure, neutrales wie basisches Bleiacetat, Silbernitrat, Eisenchlorid wie Quecksilberchlorid bewirkten dagegen intensive, derbe Niederschläge. Uns interessiren des Näheren ausschliesslich die Fällungen der Metallsalze, welche, wie die folgenden Versuche lehren werden, weder von anorganischen Salzen (wie z. B. von Phosphaten), noch von diffusibelen Peptonen, sondern von einer indiffusibelen Albumose herrühren.

Sättigte ich eine Lösung des sogenannten Caseinpeptons mit Ammoniumsulfat, filtrirte darauf die Albumoseausscheidung ab und löste dieselbe, nachdem sie zuvor mehrere Male mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung ausgewaschen war, in destillirtem Wasser auf, so blieb bei der Dialyse im fliessenden Wasser (nach Kühne's Vorschrift ausgeführt) ziemlich die gesammte Albumosemenge — jedenfalls der von mir als Caseinose bezeichnete Körper, welcher durch die oben aufgezählten Reactionen charakterisirt wird — im Schlauche zurück. Bei dieser dialytischen Reinigung der Lösung verfuhr ich in der Weise, dass ich, um jeder Fäulniss vorzubeugen, den Schlauchinhalt nach je 12—15 Stunden aufkochte und nach einer viertägigen Dialyse im fliessenden Wasser, unter den nämlichen Cautelen, den Schlauchinhalt in grossen Gefässen nochmals gegen destillirtes Wasser, welches täglich erneuert wurde, drei Tage lang dialysirte. Versäumt man die angegebenen Vorsichtsmaassregeln bei einer mehrere Tage lang fortgesetzten Dialyse zu treffen, so scheidet sich in dem Schlauchcontentum eine schieferblaue, feinkörnige Materie ab, welche Mikroorganismen ihr Entstehen verdankt, während bei Fernhaltung jeder Fäulniss-

erreger die gelbbraune Flüssigkeit sich kaum getrübt erweist; filtrirt man diese, so erhält man eine schwach alkalisch reagirende Lösung, welche kalt die Biuretreaction und die Phosphormolybdänsäure- wie Gerbsäurefällung noch ebenso stark als vor der Dialyse zeigt, weder durch organische noch durch anorganische Säuren, wohl aber durch Natron- wie durch Kalilauge gefällt wird. Die flockigen organischen Niederschläge, welche die fixen Alkalien (nicht Ammoniak) in solchen Flüssigkeiten hervorrufen, lösen sich weder im Ueberschusse des Zusatzmittels, noch beim Kochen, verschwinden indess sofort, wenn sie mit sauren Flüssigkeiten (Essigsäure, Salzsäure, Salpetersäure u. dgl. m.) zusammengebracht werden. In der ursprünglichen dialysirten Lösung ruft der erste hinzugefügte Tropfen einer verdünnten Silbernitrat-, einer neutralen oder basisch essigsauren Bleilösung einen massigen Niederschlag hervor, welcher sich im Ueberschuss des Zusatzmittels nicht löst und beim Kochen zu fester struirten Flocken zusammenschrumpft. Die Bleiniederschläge lösen sich in organischen wie in anorganischen Säuren und auch bei einem zweckmässigen Zusatze von Kalilauge zu vollkommen klaren, braungelb gefärbten Flüssigkeiten auf; ähnlich verhalten sich die Silberniederschläge, welche auf Salpetersäure- wie auf Ammoniakzusatz in Lösung gehen. Die Fällungen, welche Quecksilberchlorid und Eisenchlorid in der dialysirten Flüssigkeit hervorrufen, unterscheiden sich von denen, welche auf Zusatz von Silbernitrat und von Bleiacetat entstehen, dadurch, dass sie zu ihrer Bildung einer fest bestimmten Menge der Metallsalze benöthigen. Das Quecksilberchlorid geht nämlich mit der Caseinose mehrere Doppelverbindungen ein: Erstens solche, welche quecksilberarm und in Wasser leicht löslich sind, zweitens solche, welche quecksilberreicher sind und in Wasser schwer sich lösen; für Wasser leicht lösliche Doppelverbindungen, welche noch quecksilberreicher als die letzteren sich erweisen, scheint es nicht zu geben, weshalb auch der aus diesen bestehende Niederschlag auf weiteren Sublimatzusatz nicht wieder schwindet.

Will man die schwer lösliche Verbindung der Caseinose mit Eisenchlorid darstellen, so hat man weit vorsichtiger als bei der Quecksilberchloridfällung zu verfahren, da sich die Doppelverbindung bei überschüssig zugesetztem Eisenchlorid (vielleicht aber nur in Folge der sauren Beschaffenheit von diesem) leicht wieder auflöst. Versetzt man Caseinoselösungen mit einer sehr verdünnten Eisenchloridlösung, so verschwindet deshalb auch die an

der Berührungsfläche beider Flüssigkeiten sich einstellende Trübung beim Schütteln noch nach reichlichen Mengen des Zusatzmittels; plötzlich beginnt aber die Lösung sich stärker blutroth zu färben, und dann bedarf es nur noch eines geringen Eisenchloridzusatzes, damit die ganze Masse in eine steife Gallerte, die sich beim Schütteln in festere Fäden verwandelt, übergeht.

Die Fällungen, welche Caseinoselösungen mit Quecksilberchlorid geben, lösen sich auf Zusatz von Salpetersäure, Salzsäure, Essigsäure, Kalilauge und von Salmiakgeist in Wasser klar und rasch auf. Weniger vollständig erfolgt die Lösung bei Anwendung von Soda und noch geringer fällt dieselbe bei Anwendung von Ammoniumsesquicarbonat aus; bei diesen beiden Zusatzmitteln erschwert ein Erwärmen der Flüssigkeit eher den Lösungsvorgang als dass es denselben beschleunigt. Die für Wasser schwer lösliche Doppelverbindung der Caseinose mit Eisenchlorid löst sich auf Zusatz von Alkalien (Kalilauge, Soda, Salmiakgeist, Barytwasser, nicht aber auf Zusatz von Ammoniumsesquicarbonat) wie von Säuren (Salpeter-, Salz-, Essigsäure) zu einer rothbraunen, klaren Flüssigkeit auf; beim Kochen mit Wasser scheint die Eisenchloridverbindung unzersetzt zu bleiben, während die Quecksilberchloridverbindung der Caseinose dabei eine gleiche Dissociation wie die Blei- und Silberverbindung erleidet. Alle diese Reactionen stimmen zu denen der Hemialbumose wie zu denen des Fibrinpeptons sehr schlecht und rechtfertigen, wie ich glaube, im vollen Umfange die Bezeichnung des aus dem Casein gewonnenen indiffusibelen, in Wasser leicht löslichen Productes als Caseinose. Auf eine nähere Betrachtung der Reactionen dieses Körpers kann gegenwärtig nicht wohl eingegangen werden; eine solche wird so lange verschoben werden müssen, bis das Verhalten verschiedener Albumosen und vor allen der Globulosen verschiedener Abstammung besser untersucht worden ist als heutzutage. Ich will mich deshalb auch auf die Bemerkung beschränken, dass unsere Caseinosepräparate, frisch untersucht, ziemlich vollständig aus einem einheitlichen Körper bestehen dürften, und dass nur die partiellen Auflösungen, welche die Metallverbindungen derselben sei es beim Kochen, sei es auf Zusatz von Natrium- oder Ammoniumcarbonat erfahren, auf geringfügige Verunreinigungen durch andere, immerhin in ihren Reactionen sich sehr ähnlich verhaltende Eiweissderivate hindeuten.

In dem mit Ammoniumsulfat gesättigten Filtrate von den Albumosen verblieben über 20 gr. feste organische Stoffe; als aber

der Trockenrückstand desselben nach seiner Reinigung von den Mineralbestandtheilen mikroskopisch geprüft wurde, erwies sich derselbe zum weitaus grössten Theile aus den bekannten Krystallaggregaten des Leucins und Tyrosins bestehend, von welchen das Leucin am reichlichsten vertreten war. Neben diesen Amidokörpern fanden sich immerhin bemerkenswerthe Mengen von echten Peptonen vor, welche in dieser Mischung jedoch keine„ auch nur annähernd zuverlässige, gewichtliche Bestimmung auszuführen gestatteten. Kühne hat das eminente Löslichkeitsvermögen peptonhaltiger Flüssigkeiten für viele, in Wasser an sich schwer lösliche, organische Substanzen, besonders für die Amidosäuren, mehrfach betont, aber trotzdem ist den meisten Forschern diese Eigenthümlichkeit der Peptonlösungen verschlossen geblieben und von denjenigen, welche den Peptongehalt käuflicher Präparate in Zahlen ausdrückten, gänzlich vernachlässigt worden. Wir besitzen, wie gesagt, gegenwärtig keine einzige brauchbare Methode, welche die von den Peptonen in Lösung gehaltenen Albumose-, Leucin- und Tyrosinmengen auch nur annäherungsweise zu bestimmen erlaubt, und wenn man sich der wenigen Fällungsreactionen erinnert, welche reine Fibrinpeptonlösungen mir (vgl. S. 38) zeigten, so dürfte auch jede Hoffnung schwinden, dass es auf dem Wege der Fällung überhaupt einmal gelingen wird, die Peptone unvermischt einer Wägung zugängig zu machen. Ich kenne nur ein einziges Mittel, welches uns eine leise Andeutung von dem Peptongehalte einer gesättigten Ammoniumsulfatlösung zu geben vermag; dieses besteht darin, dass man die Lösung in angegebener Weise (vgl. S. 52) vollkommen entammoniakalisirt und alsdann an einer Theilportion die Biuretprobe ausführt. Kennt man die Intensität, mit welcher diese Reaction an Lösungen von bestimmtem Gehalte an reinen Peptonen eintritt, fügt man dabei die gerade erforderliche Quantität von Natronlauge hinzu und vermeidet man fernerhin auf's Sorgfältigste jeden Ueberschuss wie jeden Mangel an Kupfersulfat, so gewinnt man immer noch das wahrheitsgetreueste Bild von dem Gehalte einer Flüssigkeit an Peptonen. Schliesst dieses Verfahren Täuschungen durch mitgelöste Albumosen keineswegs aus, so weicht dabei der stets nur zu hoch zu findende Peptongehalt doch in weit geringerem Maasse von der Wahrheit ab als bei jenen Analysen, wo nach der Ausfällung der Eiweissstoffe durch Ferrocyankalium + Essigsäure resp. durch Neutralsalze die reinen Peptone durch Phosphorwolframsäure, durch Alkohol, Gerbsäure u. dgl. m. niedergeschlagen wurden. Bei letzteren Verfahren fällt

man unter anderen auch leimartige Stoffe und die Amidosäuren aus und bei Anwendung von Phosphormolybdän- oder Gerbsäure, dieses Alles nicht einmal im reinen Zustande, sondern in Form complicirter Verbindungen mit dem Zusatzmittel. Keiner dieser Fehler lässt sich natürlich irgendwie dadurch corrigiren, dass man nachträglich den Stickstoffgehalt der Niederschläge bestimmt und diesen mit Hülfe des seit Henninger's Arbeiten üblich gewordenen Factors auf Peptone berechnet. Wer sich dieser von Fresenius, Weyl und vielen Anderen eingeschlagenen Verfahren zur Bestimmung des Peptongehaltes eines Präparates bedienen wollte, dem würde zu rathen sein, auf eine quantitative Bestimmung von vornherein zu verzichten; denn alle nach diesen Methoden gefundenen Zahlen verdienen kein grösseres Vertrauen als wenn sie mit dem Spielbecher einfach ausgewürfelt worden wären.

Lasse ich mich bei Beurtheilung des Peptongehaltes der Ammoniumsulfatlösung von 50 gr. des Weyl'schen Caseinpeptons auch lediglich von dem Ausfalle der Biuretreaction leiten, so muss ich doch zugestehen, dass darin wenigstens einige Gramme echter Peptone vorhanden waren; ich gewann den Eindruck von etwa 3 gr., während das Uebrige, was den verhältnissmässig bedeutenden organischen Verdampfungsrückstand der schliesslich erhaltenen Lösung ausmachte, vornehmlich Leucin und Tyrosin zu sein versprach. Löste ich von dem peptonhaltigen Verdampfungsrückstande etwas in Wasser, so stellte sich nach dem Ansäuern mit Essigsäure auf Bromwasserzusatz eine starke Röthung ein, welche ebenso wie der beträchtliche Gehalt des Rückstandes an den Amidosäuren eine Gewinnung des Weyl'schen Präparates durch Trypsinverdauung ausser Frage stellt; so wird auch der bittere Geschmack des Präparates und sein unliebsamer Geruch leicht verständlich.

Um festzustellen, in welcher Weise sich die Caseinpeptone von den Caseinoselösungen gegen Fällungsmittel unterscheiden, wurde ein mehrere Wochen trocken und ruhig aufbewahrter Theil des peptonhaltigen Verdampfungsrückstandes mit wenig kaltem Wasser verrieben und die Flüssigkeit filtrirt. Ich habe bereits bei anderer Gelegenheit[1]) darauf hingewiesen, dass auf diesem Wege die Amidosäuren noch am besten in einen für Wasser schwer löslichen Zustand überzuführen sind. Der so gewonnene alkalisch

1) Vgl. - physiologische Studien. 2 Reihe. 1 Abth. Heidelberg. 1882. S. 32.

reagirende wässrige Auszug erhielt jedoch noch viel Leucin und Tyrosin, und ich lege deshalb den folgenden Reactionen, obschon dieselben durch die Amidosäuren direct sicherlich nicht bedingt waren, auch keine grössere Bedeutung bei. Starke flockige Niederschläge entstanden auf Zusatz von Kalilauge, von Silbernitrat, von neutralem wie basischem Bleiacetat, von viel Quecksilberchlorid, und es zeigte sich in diesen Fällungen eine vollkommene Uebereinstimmung mit den Caseinoselösungen; nur der Eisenchloridniederschlag blieb aus, obschon sich auch die Peptonlösung mit diesem Reagenz intensiv blutroth färbte.

Bevor ich mich auf weitere kritische Bemerkungen über die angeblichen Peptone des Handels einlasse, möchte ich mich noch über ein anderes Präparat ausgesprochen haben, welches seines Wohlgeschmackes und seiner zweckmässigen Form wegen unsere volle Anerkennung verdient. Es ist „Cibils flüssiger Fleischextract". Mehrere Gläser desselben wurden mir von Herrn Max Koch in Braunschweig, welcher bei dem Unternehmen das General-Depôt für Nord- und Mitteldeutschland übernommen hat, gütigst zur Verfügung gestellt. Gleichzeitig mit Cibils Fleischextract unterwarf ich der Untersuchung eine Imitation desselben, welche unter der Etiquette: „Entrerios, Bouillon-Extract" von W. L. Schmidt in Berlin, als dem Engros-Lager für das Deutsche Reich, in den Handel gebracht wird. Beide Fleischextracte stellen Suspensionen dar, sind deshalb vor dem Gebrauche umzuschütteln, liefern aber klare Filtrate. Was von albumoseähnlichen Körpern sich in wirklicher Lösung befindet, ist (zweifellos des hohen Salzgehaltes wegen) sehr gering; den grössten Theil derselben schliesst der feine Detritus ein, welcher in reichlicher Menge bei Cibils, in viel geringerer bei Entrerios auf dem Filter zurückbleibt. Filtrirt man etwas von diesem Bodensatze aus Cibils Fleischextract ab und löst denselben in destillirtem Wasser, so resultirt eine Flüssigkeit, welche sich folgendermaassen verhält: Die verschiedenartigsten Säuren (wie z. B. Salz-, Salpeter-, Essig-, Phosphormolybdän- und Gerbsäure) rufen voluminöse Niederschläge hervor, welche sich beim Erhitzen der Flüssigkeit wieder vollständig lösen, während sich die warm bereiteten wässrigen Lösungen beim Abkühlen nicht trüben; Quecksilberchlorid bewirkt nur im Ueberschuss zugesetzt eine weisse Fällung, die ebenfalls beim Kochen schwindet. Alaun wie Kaliumdichromat trüben die wässrige Lösung nicht, welche auch (wahrscheinlich nur wegen geringfügiger Verunreinigungen) durch neutrales wie basisches Bleiacetat opalisirend wird.

Die suspendirte Masse, welche nach diesen Fällungsreactionen leicht den Schluss auf echte Albumosen veranlassen könnte, besteht nur zu einem geringen Theile aus solchen; denn nicht allein die Adamkiewicz'sche und die Kochprobe mit concentrirter Salzsäure liefern bezüglich der näheren Eiweissderivate ein negatives Ergebniss, sondern auch der Ausfall der Millon'schen Reaction, ja selbst der Biuretprobe bleibt, wenn die Prüfungen an dem Filterinhalte direct vorgenommen werden, ein unerwartet schwacher. Letztere Thatsache konnte ich mir lange Zeit nicht anders als durch die Annahme erklären, dass der Niederschlag neben Leimpeptonen auch viel von den sogenannten organischen Extractivstoffen des Fleisches (vornehmlich Kreatin) enthielt; für diese Deutung schien auch zu sprechen, dass, wenn durch die Säurefällung ein gleichmässigeres Präparat erzielt ist, die Millon'sche wie die Biuretprobe an den Lösungen schärfer hervortreten, während (der Leimpeptone wegen) die für die Eiweissderivate im engeren Wortsinne charakteristischen Farbenreactionen (Kochprobe mit concentrirter Salzsäure und Adamkiewicz'sche Reaction) auch alsdann noch maskirt bleiben. Wie wir sogleich erfahren werden, hat mich eine speciell auf die Veränderungen des Lehmann'schen Syntonins bei Behandlung mit kalter, verdünnter Natronlauge gerichtete Untersuchung später jedoch eines Besseren belehrt.

Beim Sättigen von 25 cbc. des unverdünnten Filtrates von Cibils Fleischextract mit neutralem Ammoniumsulfat bleiben ca. 1.5 gr. organische Substanz (als fester Rückstand berechnet) in Lösung; doch wie die weitere Verarbeitung dieser Flüssigkeit ergab, befindet sich darin auch nicht die geringste Spur peptonartiger Körper, welche durch die Biuretreaction indicirt werden. Das nämliche gilt von Entrerios Bouillon-Extract, welches an Feinheit der Suspension, an Wohlgeschmack und in seinem Gehalte an Extractivstoffen Cibils flüssigem Fleischextrate erheblich nachsteht.

Die von mir angegebene Methode zur Isolirung der Chondroitsäure aus dem Knorpel gründet sich bekanntlich darauf, dass das Collagen bei tagelanger Maceration auch mit ziemlich concentrirter Natronlauge so gut wie unangegriffen bleibt. Eiweissstoffe, unter ähnlichen Bedingungen der Einwirkung der Lauge unterworfen, erfahren dagegen bald eine Umwandlung in für kaltes Wasser lösliche Alkalialbuminate. Setzt man eine Mischung aus fein zertheiltem rohem Fleisch und einer 10—20%igen Natronlauge an, so wird sich nach einer monatelangen Aufbewahrung die Masse

nur grösstentheils gequollen erweisen, und das ganze Verhalten des Fleisches zu der Lauge weist darauf hin, dass in jenem die echten Albuminstoffe einem Körper gegenüber an Menge erheblich zurücktreten, welcher den Collagenen insofern verwandt ist als derselbe nach andauernder Maceration mit Natronlauge nur äusserst schwach die Millon'sche Reaction giebt, concentrirte rohe Salzsäure beim Sieden nur schmutzig gelb, bei der Adamkiewicz'schen Probe die Säuremischung braunroth färbt und demnach die typischen Eiweissreactionen nicht eingeht. Verhältnissmässig stark zeigt derselbe die Xanthoproteinsäurereaction, doch, was am auffallendsten ist, bleibt selbst bei Verwendung von mehr als 1 gr. der Ausfall der Biuretprobe beim Kochen nur ein ausnehmend schwacher. Diese zum Theil ganz negativen Reactionen, welche man an jedem Rückstande von Rindfleisch beobachtet, welches monatelang mit einer 3—5%igen Natronlösung in Berührung blieb, alsdann abgeseiht, auf dem Colirtuche ausgewaschen und durch Dialyse von allen diffusibelen Beimengungen befreit wurde, sind ohne Frage auf das Lehmann'sche Syntonin zu beziehen.

Nachdem ich mich oft überzeugen musste, dass Substanzen, welche allgemein als in den Geweben präformirte angesehen wurden, nichts anderes als künstliche Spaltungsproducte sind, und ich zur Genüge die Schwierigkeiten kennen gelernt habe, welche sich allen Schlüssen in dieser Richtung entgegenstellen, getraue ich mir nicht, eine Entscheidung darüber herbeizuführen, ob schon das Syntonin der Muskelfaser als solches ein durch die angegebenen Reactionen den Collagenen so nahestehender Körper ist, oder ob die betreffende Materie erst bei der Behandlung mit der Lauge aus demselben künstlich abgespalten wurde. Behalten wir allein die unumstösslichen Thatsachen im Auge, so leuchtet ein, dass das Syntonin nach sehr verschiedenartigen Proceduren — sei es, dass durch diese nur beigemengte veritabele Eiweissstoffe beseitigt werden oder das Syntonin auch gleichzeitig weiter zersetzt wird — in Form einer Substanz zurückbleibt, welche bei tiefgehenderem Zerfalle Producte liefert, welche von den sogenannten Leimpeptonen bislang nicht unterschieden werden konnten und deshalb mit diesen auch immer confundirt wurden. Die oben mitgetheilten Reactionen (besonders der schwache Ausfall der Biuretprobe) der in Cibils Fleischextracte suspendirten Materien weist indess darauf hin, dass es sich z. B. in diesem Falle nicht um Collagen-, sondern vielmehr um Syntoninabkömmlinge handelt, und das Gleiche wird jetzt von dem sehr ähnlich sich verhaltenden Be-

standtheilen des Kochs'schen und Kemmerich'schen Fleischpeptons (S. 51 Anm. 1) anzunehmen sein.

Es liegt auf der Hand, dass solchen Patienten, deren natürliche Verdauung hart darnieder liegt, deren Resorptionsvermögen erheblich geschwächt ist, nur mit leicht resorbirbaren Artefacten gedient sein kann, welche sich in ihrer chemischen Zusammensetzung den Eiweisskörpern eng anschliessen, gleich den veritabelen Albumosen und Peptonen eine annähernde quantitative Elementarzusammensetzung wie jene besitzen, und denen nicht gerade die für die Eiweissstoffe typischen Atomcomplexe gänzlich mangeln. Schon aus diesem Grunde muss ich die vielfachen Bestrebungen der allerjüngsten Zeit, aus dem Fleische eine leicht resorbirbare Krankenkost darzustellen, für völlig verfehlte Speculationen halten, und ich verstehe gleichfalls nicht, wie Weyl darauf verfiel, als Ausgangsmaterial ein Proteid, das Casein, zu wählen, welches neben den Eiweissderivaten Zersetzungsstoffe liefert, über deren Nährwerth durchaus nichts ermittelt ist.

Im vollen Einklange mit unserer Auffassung befinden sich die Ergebnisse von Fütterungsversuchen, welche Zuntz[1]) sowohl mit dem Kochs'schen wie mit dem Kemmerich'schen Fleischpeptone ausgeführt hat. Diese besagen, „dass eine tägliche Dosis von 60.67 gr. Kochs'schen Pepton ebensowenig wie eine solche von 48.49 gr. Kemmerich'schen Pepton im Stande war, den Eiweissbestand des nebenbei nur noch 20 gr. Fett empfangenden Thieres ganz intact zu erhalten; dasselbe verlor täglich bei Fütterung mit Kemmerichs Pepton 0.480 gr., bei Fütterung mit Kochs' Pepton 0.486 gr. Stickstoff von seinem Körper." Zu abweichenden Resultaten gelangten zwar E. Kemmerich[2]), W. Kochs[3]) und auch E. Pfeiffer[4]); doch, wie wir noch näher zu erörtern haben werden, sind die Arbeiten dieser Autoren wegen der gleichzeitig mitverabreichten Nahrung, welche z. B. bei Kochs' und Kemmerich's Versuchen pro die aus mehreren hundert Gramm Milch bestand, für die oben aufgeworfene Frage ohne jeglichen Belang.

---

1) N. Zuntz, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 37. 1885. S. 313 bis 324 und Berliner klinische Wochenschrift. 1885. No. 48. S. 791—792.

2) E. Kemmerich, Berliner klin. Wochenschrift. 1885. No. 2. S. 24.

3) W. Kochs, Ein neues Fleischpepton. Bonn 1884.

4) E. Pfeiffer, Berliner klin. Wochenschrift. 1885. S. 477.

Der hohe Preis des Kochs'schen wie Kemmerich'schen Peptones bringt es allein schon mit sich, in diesen nichts Anderes als eine Krankenkost zu erblicken; für Gesunde giebt es weit wohlfeilere und wohlschmeckendere Nahrungsmittel. Ich möchte deshalb auch die Frage nicht ganz unberührt gelassen haben, ob es möglich ist, für ein Billiges echte Peptone fabrikmässig darzustellen, welche an sich so gut wie geschmacklos sind, und denen somit erforderlichen Falls jeder beliebige Geschmack künstlich zu ertheilen ist.

Ueber die Vorschrift zu einem derartigen Präparate braucht man nicht lange mehr nachzusinnen; ich habe eine solche in meinem „Grundriss der medicinisch-chemischen Analyse (Heidelberg. 1884. S. 38) ausführlich angegeben, und ich habe derselben nur noch hinzuzusetzen, dass bei genauer Einhaltung der Vorschrift die Peptonisirung von vielen Pfunden Fibrin eher noch leichter von Statten geht als bei wenigen Fibrinflocken. Die Beschaffung des Rohmateriales, des Fibrins also, könnte vielleicht an einigen Plätzen Deutschlands zu finanziellen Bedenken Anlass geben; doch diese fallen in den Fleischextractfabriken Südamerika's ganz von selber fort, da in diesen, wie ich aus zuverlässiger Quelle weiss, das Fibrin ebenso wie das Blutwasser des Schlachtviehes ganz unbenutzt bleiben und dort, wo sich beides aus den Rinnsalen der Fabriken in die grossen Ströme entleert, nur die Alligatoren in hellen Schaaren erscheinen, um mit weit geöffnetem Rachen den kostbaren Saft zu schlürfen, dessen unvergleichlichen Nährwerth die civilisirten Nationen am Ende des neunzehnten Jahrhunderts noch nicht zu würdigen verstehen!

Gilt es eine Speise für Magenleidende zu präpariren, durch welche das erkrankte Organ seiner Arbeit künstlich enthoben werden soll, so liegt gewiss nichts näher als dabei auf einen reinen Eiweissstoff zurückzugreifen, diesen unter möglichst genauer Einhaltung der natürlichen Verhältnisse peptisch [1]) zu verdauen und alsdann das Peptonisationsproduct in einer annehmbaren Gestalt zu verabreichen. Dass nicht ein derartiges Präparat mit gleichem

1) Da v. Wittich's Methode der Pepsindarstellung nachgewiesenermaassen (vgl. Krukenberg, Unters. a. d. physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg. Bd. 2. Heft 4. 1882. S. 418 und 419) ein sehr wenig wirksames Pepsinglycerin liefert, so ist die von Kühne getroffene Abänderung des v. Wittich'schen Verfahrens (vgl. Krukenberg, Grundriss etc. S. 35) unter allen Umständen allein am Platze; mittelst dieser werden die wirksamsten Extracte erzielt, aus dem ein-

Nutzen auch bei Darmerkrankungen Verwendung finden kann, und dass bei diesen ebenfalls nicht die Producte einer ausschliesslichen Trypsinverdauung von vornherein zweckdienlich erscheinen müssen, liegt nicht weniger klar auf der Hand. Um der Pankreasdrüse und dem Darme die Arbeit zu erleichtern, thut ein Präparat noth, welches unter möglichst naturgetreuer Nachahmung der physiologischen Bedingungen aus den peptischen Verdauungsproducten eines echten Eiweisskörpers (des Fibrins) durch eine nachträgliche Trypsinverdauung gewonnen ist. Zweckmässige und bewährte Vorschriften zu derartigen Präparaten, einerlei ob man sie gramm- oder centnerweise zu erhalten trachtet, habe ich ebenfalls in meinem Grundrisse (S. 35 ff.) mitgetheilt. Es bleibt aber einmal ein charakteristischer Zug unserer Zeit, dass, obschon der richtige Weg für eine fabrikmässige Darstellung brauchbarer Präparate für Jedermann schwarz auf weiss genau angegeben steht, fortwährend gänzlich verkehrte Methoden patentirt werden, und der grosse, dadurch verblendete Haufe diesen Phantomen eifrig nachjagt.

Würde man sich durch das Gesagte hinreissen lassen, die bei der Fleischextractfabrication in so gewaltigen Quantitäten resultirenden Fleischrückstände als Nahrungsmittel für uns Menschen nicht mehr tauglich zu erachten, so täuschte man sich sehr. Zwar hat von den sämmtlichen Fabrikanten noch kein einziger den Versuch gemacht, sich nach einem Verfahren umzusehen, diese Quelle des besten Nahrungsmateriales für den Gesunden der Menschheit zugängig zu machen. Sei es, dass ich die Thüringer Wälder durchwanderte und in Ortschaften kam, deren Bewohner in ihrer Existenz lediglich auf ihre Kartoffelernte angewiesen sind, sei es, dass ich am Neckar weilte und hier gezwungen war, täglich das zähe Rindfleisch zu geniessen, welches von ausgekochtem Schuhleder kaum zu unterscheiden ist, — oft kam mir der Gedanke, dass sich die Fleischrückstände der südamerikanischen Extractfabriken besser ausnutzen lassen müssten als es heute geschieht, wo nur ein kleiner Theil derselben, an Duft und Beschaffenheit dem Guano gleich, mit geringem Glück als Viehfutter weitere Verwendung findet.

---

gedampften und getrockneten Verdauungsproducte lässt sich das zugesetzte Glycerin durch wenig Alkohol vollständig beseitigen, der peptonhaltigen Masse aber durch Befeuchten mit Wasser eine, beim Trocknen sich erhaltende, glasartig durchsichtige Beschaffenheit verleihen.

In meinem Aufsatze, welcher über die sogenannte Leube-Rosenthal'sche Fleischsolution handelt, habe ich S. 56 bereits einen Fingerzeig gegeben, wie derartige Fleischrückstände durch einen geringen Salzsäurezusatz gut zu conserviren sind, wie die Säuremenge leicht wieder zu entfernen [1]), und so eine an sich geschmack- wie geruchlose Masse zu erzielen ist, welche als zusagende tägliche Kost der Bevölkerung ungünstig situirter Gegenden zugängig zu machen oder in einen Leckerbissen zu verwandeln, schliesslich jeder bessere Koch gewachsen sein muss. Dem Grossindustriellen eröffnet sich hier eine unabsehbare Perspective, reich an pecuniärem Gewinn und dem deutschen Volke wenigstens vorläufig mehr Nutzen versprechend als alle überseeischen Colonieen.

Solange über den Nährwerth der Peptone (vgl. S. 55 u. 68) die Ansichten der Forscher sich noch so diametral entgegenstehen als heute, und über den Nährwerth der Albumosen Sicheres überhaupt nicht ergründet wurde, lassen sich aus derartigen analytischen Belegen, wie solche J. Koenig [2]) erfolgreich zusammenzustellen glaubte, gar keine physiologische Schlussfolgerungen ziehen. Den physiologischen Werth der künstlichen Ersatzmittel für normale Verdauungsproducte und billiger Fleischconserven vermögen wir gegenwärtig ganz ausschliesslich nur aus der Bereitungsweise derselben zu erschliessen; hierfür tritt einmal der Satz in sein volles Recht, dass, soll ein natürliches Verdauungsproduct durch ein Artefact ersetzt werden, bei der Darstellung die physiologischen Verhältnisse möglichst genau nachgeahmt werden, und soll ein Nahrungsstoff einfach conservirt werden, die Zusatzmittel ihn möglichst unverändert lassen müssen. Pecuniäre Interessen, Befürchtungen vor Imitationen und vor Concurrenz, welche die Fabrikanten käuflicher Peptonpräparate hindern, die Art der Darstellung allgemein bekannt zu geben, können die Artikel nur

---

1) Handelt es sich darum, Fleischrückstände durch eine verdünnte Salzsäure längere Zeit zu conserviren, und nicht allein darum (was z. B. bei der Darstellung der Leube-Rosenthal'schen Fleischsolution erzielt werden sollte) die festen Fleischbestandtheile gallertig quellen zu machen, so ist (damit kein zu beträchtlicher Verlust an Eiweissstoffen, und namentlich nicht an dem für Salzsäure verhältnissmässig leicht löslichen Syntonin eintritt) bei Benutzung der Conserve die Säure nicht direct auszuwaschen, sondern durch Soda vorerst zu neutralisiren.

2) J. König, Ueber die Fleischpeptone des Handels. Arch. f. Hygiene. Bd. 3. 1885.

entwerthen helfen; denn weder ein einsichtsvoller Arzt, noch ein verständiger Mensch überhaupt wird unter den jetzt obwaltenden Umständen zu Präparaten greifen, deren Bereitungsweise ihm durchaus dunkel blieb, und welche ihm somit gar keine Garantie bieten, dass sie von Dem thatsächlich Spuren enthalten, was sie angeblich in ziemlich reinem Zustande vorstellen sollen. Dass bei einer solchen Verschwiegenheit das durch die allgemein bekannt gegebene Darstellung eines Präparates allein gesicherte Vertrauen auch durch die Betheuerungen bewährter Mineralchemiker nicht wieder herauf zu beschwören ist, scheint mir nach dem Gesagten keiner weiteren Auseinandersetzung bedürftig.

Wenn nun aber das Lehmann'sche Syntonin, die Hauptmasse des allein als nährender Bestandtheil des Fleisches anzusprechenden Fleischrückstandes entweder schon an sich keinen vollen Eiweisskörper, sondern vielmehr eine collagenartige Substanz darstellt, oder bei verhältnissmässig geringfügigen Proceduren in eine solche übergeht [1]), wie kommt es dann, dass dem Fleische seit undenklichen Zeiten und gewiss mit vollem Rechte ein so bedeutender Nährwerth zugestanden wird?

Auf Grund der von mir ermittelten Verhältnisse bei Fischen und Krebsen, unter welchen einige Species ausschliesslich auf eine tryptische, andere hingegen ausschliesslich auf eine peptische Verdauung der eiweisshaltigen Nahrungsmittel angewiesen sind, habe ich zuerst und zwar mehrfach die Ansicht geäussert [2]), dass es unverständlich sei, warum z. B. bei den Säugethieren die eiweisshaltige Kost durch zwei Enzyme bewältigt werde, warum der Organismus für die Eiweissverdauung ein peptisches und ein tryp-

1) Derartige Beziehungen des Syntonins zu den Collagenen waren mir bereits vor Jahren wahrscheinlich geworden, sowohl damals, als ich zur Gewinnung der organischen Extractivstoffe die verschiedentlichsten Fleischrückstände mit Wasser gemischt successive auf 100° C. erhitzte, als auch bei meinen Versuchen, die ausgekochten Fleischrückstände durch Enzyme zu verdauen. Es fehlten indess zu jener Zeit noch alle Vorarbeiten, welche diesen Beziehungen näher nachzuforschen gestatteten, und so mussten die Untersuchungen bis auf jetzt verschoben werden, wo sowohl durch meine Arbeiten über die Hyalogene (cf. Krukenberg, Vgl. - physiol. Vorträge, Bd. 1. Heft 4. Heidelberg 1885. S. 216—221) wie durch Kühne's neueste Erfahrungen über die Keratine (vgl. Krukenberg, a. a. O. Bd. 1. Heft 6. 1886. S. 410) ein festerer exakter Boden für dieselben geschaffen ist.

2) Unters. a. d. physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg. Bd. 2. Heft 1. 1878. S. 35—36 u. Vgl. - physiol. Vorträge. Bd. 1. Heft 1. 1882. S. 22.

tisches Enzym in seinen Secreten entsende, und die Eiweissverdauung nicht ausschliesslich von Pepsin oder ausschliesslich von Trypsin besorgt werde; ich neigte dazu, an eine einfache Luxusproduction zu denken. Da wir indess durch Kühne's Untersuchungen wissen, dass bei der Trypsinverdauung, und ausschliesslich bei dieser, Amidosäuren aus den secundären Spaltungsproducten der Eiweisskörper, aus den Peptonen nämlich, abgesplissen werden, seit unserer näheren Bekanntschaft mit dem Syntonin collagenartige Substanzen bezüglich der Ernährung von Gesunden den echten Eiweissstoffen als ziemlich ebenbürtig an die Seite treten, und T. Escher's Versuche an Hunden und Schweinen (vgl. S. 48) uns versichern, dass leimhaltige Nahrungsgemische den Körperbestand zu erhalten, ja zu vermehren vermögen, sobald ihnen Tyrosin zugesetzt wurde, — seit diesen Erfahrungen, sage ich, lässt sich meine bisherige Ansicht nicht mehr aufrecht erhalten.

Die im vorausgegangenen Satze zusammengefassten drei Versuchsergebnisse berühren die wesentlichsten Punkte, welche eine Umformung unserer Auffassung nothwendig machen. Wir würden hiernach die aus den Eiweisssubstanzen durch die Trypsineinwirkung abgespaltenen Amidosäuren, unter welchen dem Leucin vermuthlich keine geringere Rolle zufällt als dem Tyrosin, fernerhin nicht mehr als reine Excretstoffe zu betrachten haben, sondern vielmehr als dazu dienend, die mit den Eiweissstoffen zugleich aufgenommenen collagenartigen Materien in wahre Albuminsubstanzen umzuwandeln. So wird es verständlich, weshalb collagenartige Stoffe bei intact gebliebener, normaler Verdauungsweise wenigstens annähernd den gleichen Nährwerth als die Eiweisssubstanzen besitzen, während jene ohne diese genossen (oder bei hochgradigen Störungen der Darmverdauung auch mit diesen zusammen) das Stickstoffgleichgewicht dem Organismus zu erhalten kaum geeignet sind. So gewinnt Alles, was bruchstückweise herausgerissen sich bei unseren Betrachtungen zu widersprechen scheint, einen inneren Zusammenhang und eine Erklärung durch die Thatsachen selbst.

Jena, den 4. Juni 1886.

Zur Charakteristik einiger physiologisch und klinisch wichtigeren Farbenreactionen.

Zweite Abhandlung[1]).

Als mein erster Aufsatz über Farbenreactionen erschien, war ausser am Hämoglobin und Urobilin das eigenartige Spectralverhalten allgemein in Gebrauch gezogener Farbennachweise erst in seltenen Fällen und auch in solchen nur sehr mangelhaft studirt; ich bin der Erste gewesen, welcher die Spectren der charakteristischen Farbenreactionen systematisch durchuntersuchte. Ich verwandte nicht, wie es sonst üblich ist, zu den Versuchen Lösungen von ganz zufälligen Concentrationen oder nahm die Untersuchungen bei ungenügender Belichtung vor, sondern von mir wurde vor allem darauf Werth gelegt, dass die Beobachtungen an ein und derselben Lösung bei jedem nur denkbaren Sättigungsgrade und bei der günstigsten Beleuchtung durch Sonnenlicht angestellt wurden; ersteres liess sich durch das Hermann'sche Hämoscop,

1) Die erste Abhandlung ist unter dem gleichen obigen Titel in den Verhandlungen der physik.-medic. Gesellschaft zu Würzburg (N. F. Bd. 18. 1884. S. 179—202) erschienen und in der Stahel'schen Universitätsbuchhandlung daselbst auch separat verausgabt worden. Ich bemerke, dass in diesem Aufsatze S. 185 Zeile 3 von unten des Textes statt „Schwefelsäure" „Salpetersäure" zu lesen, auf S. 184 Zeile 20 von oben hinter „Salpetersäure" „+ Eisenchlorid" einzuschalten ist, und dass in meiner Schrift „Die farbigen Derivate der Nebennierenchromogene" (Virchow's Arch. f. path. Anat. Bd. 101. 1885. S. 542 bis 571), welche ebenfalls mehrere neue Beobachtungen über einschlägige Farbenreactionen enthält, auf S. 554 ohne meine Schuld die vierte Rubrik der zweiten Längsspalte unter der Tabellenüberschrift mit der vierten Rubrik der dritten Längsspalte verwechselt wurde, so dass das dort über die Chlor- und Bromfärbung des fraglichen Nebennierenchromogenes Gesagte für die betreffenden Färbungen der Kohlehydrate zu gelten hat und umgekehrt.

letzteres durch Anwendung eines Heliostaten bewerkstelligen. So nothwendig auch diese, für eine physiologische Spectroscopie von Kühne getroffenen Anordnungen jedem sorgfältigen Beobachter erscheinen müssen, so lehrt deren völlige Ausserachtsetzung bei vielen späteren Autoren doch leider nur zu sehr, wie ausserordentlich minimal die diesbezüglichen Erfahrungen bei den meisten selbständig auftretenden Forschern noch bis zu diesem Augenblicke hin geblieben sind. So ist es denn auch erklärlich zu finden, dass Pringsheim's, Engelmann's und Tschirch's dickleibige Schriften die exacten Arbeiten von A. Hansen verdunkelt haben, und dass so ungeübte Untersucher wie C. A. Mac Munn und W. D. Halliburton meinen Ergebnissen widersprachen.

Meine früheren Bestrebungen gingen ausschliesslich von dem Gesichtspunkte aus, durch Auffindung charakteristischer Spectren einzelne Reactionen zuverlässiger zu machen als dieselben an sich sind; ich glaube, dass mir dieses bezüglich der Gallenfarbstoff-, der Gallensäurereactionen und mehrerer Harnfarbstoffproben gelungen ist. Schon bei der allerdings wenig zuverlässigen Penzoldt'schen Zuckerprobe sahen wir, wie nöthig eine Verfeinerung der Reactionen in dieser Richtung werden kann, und weitere, vielleicht noch erwünschtere Beispiele hierfür werden wir im Nachstehenden bei den Gallenbestandtheilen (Cholestearin und Gallensäuren) zur Sprache bringen. Ausdrücklich sei indess betont, dass es mir niemals in den Sinn kam, allein nach dem spectroscopischen Verhalten ein Urtheil über die Identität oder Nichtidentität zweier Farbstoffe abzugeben; derartige verfehlte Speculationen zeichnen vorwiegend die Arbeiten Mac Munn's, aber nicht die meinigen aus, und in wie schwere Irrthümer sich jener Untersucher dabei verstrickte, lehren seine Angaben über die Verbreitung des Hämochromogens wohl zur Genüge. Niemand ist einer solchen Ueberschätzung der spectroscopischen Befunde so durchaus fern geblieben als ich. Ich wies nicht nur auf die recht mangelhaften experimentellen Begründungen mehrerer angeblichen Hämoglobinnachweise hin, sondern zeigte auch, dass in solchen Fällen vom Hämoglobin grundverschiedene Pigmente vorlagen, und als es Hoppe-Seyler wieder einmal glückte, der Welt den Kopf zu verdrehen, indem er ihr sein Methämoglobin octroyirte und Alle zwang, zu seiner Fahne zu schwören, da blieb ich schliesslich wieder als derjenige allein übrig, welchem die Missdeutung der spectroscopischen Befunde und die Schwächen der Hoppe-Seyler'schen Beweisführung eine sichere Ueberzeugung war. Auf einer der

späteren Seiten werden wir uns mit dem Methämoglobin noch etwas eingehender zu beschäftigen haben, und ich werde alsdann, um die persönlichen Einfälle und die Schrullen Einzelner von den gut fundirten Thatsachen der Wissenschaft unterscheiden zu können, das Methämoglobin Hoppe-Seyler's nicht anders als Hoppeïn bezeichnen [1]). Hier sei nur noch Weniges, was mir zur Beurtheilung der folgenden Abschnitte nöthig erscheint, kurz hervorgehoben.

Durch die neueren Arbeiten über die Eiweissstoffe, deren Resultate in den früheren Aufsätzen dieses Heftes wiederzugeben versucht wurde, ist den Farbenreactionen ein neues Interesse zugefallen; sie erwiesen sich besonders geeignet, uns die einzelnen Atomcomplexe, die sogenannten chromophoren Gruppen in dem complicirt struirten Eiweissmolecüle anzuzeigen und deren Vorkommen durch die Reihe der Eiweissderivate bis zum Chitin hin zu verfolgen. In derartigen molecularen Zergliederungen, wie sie an Eiweissstoffen mit so grossem Erfolge ausgeführt wurden, sehe ich eine Hauptaufgabe der chemischen Physiologie; einer solchen kann aber nicht jedes in seinem chemischen Baue verwickelt erscheinende organische Stoffwechselproduct, nicht jede sich am Aufbau des lebenden Organismus mitbetheiligende Substanz von complicirt chemischer Constitution ohne Weiteres unterworfen werden, sondern damit eine chemische Zergliederung in diesem Sinne möglich wird, bedarf es der Kenntniss vieler verschiedenartiger Proben, vor allem mehrerer Farbenreactionen, mit deren Eintreten und Ausbleiben bestimmte, experimentell gesicherte Begriffe zu verbinden sind. Eine Vervielfältigung der bekannten Farbenreactionen, die Erforschung ihres Ausfalles und ihres Eintretens bei chemisch wie physiologisch verwandten Materien, ihrer Abhängigkeit von ganz bestimmten Atomgruppen im Molecül bilden noth-

1) Sollte mein Vorschlag, rein problematischen Substanzen den Namen ihrer Entdecker beizulegen, Anhänger finden, so wird die Bezeichnung „Hoppeïn" vielfach wiederzukehren haben, und Verwechslungen von sehr differenten Gemischen werden kaum auszuschliessen sein. Eine kleine Abhülfe wäre zwar dadurch zu schaffen, dass man z. B. das Methämoglobin als α-Hoppeïn, die Nucleïne etwa als β-Hoppeïne und die Lecithine als γ-Hoppeïne auffasste. Solange man nicht ansteht, Proteïde und Stoffe von nicht eiweissartiger Natur unter der Bezeichnung „Nucleïne" zusammenzuwerfen, werden aber, wie ich glaube, aus Verwechslungen des Methämoglobins, der Lecithine u. dgl. m. keine allzu grosse Nachtheile für die wissenschaftliche Fortentwicklung zu befürchten sein.

wendige Vorarbeiten für ein solches Unternehmen. Dieser Vorstellung verdanken meine Untersuchungen über die Farbenreactionen des Cholestearins ihre Entstehung, während die übrigen Arbeiten vorwiegend noch auf den leitenden Gesichtspunkten meiner ersten Abhandlung basiren.

1. Die Spectren der Ehrlich'schen Bilirubinprobe.

Von Ehrlich[1]) ist für das Bilirubin eine sehr empfehlenswerthe Reaction angegeben, welche in der Fülle brillanter Färbungen die Gmelin'sche Gallenfarbstoffreaction noch hinter sich lässt. Diese Bilirubinprobe wird nach Ehrlich's Vorschrift in folgender Weise ausgeführt: „Versetzt man eine chloroformige Bilirubinlösung je nach ihrer Concentration mit dem gleichen oder doppelten Volumen des Ehrlich'schen Reagenz (z. B. einer Flüssigkeit, welche im Liter 1.0 gr. Sulfanilsäure, 15 cbc. Salzsäure und 0.1 gr. Natriumnitrit enthält) und fügt so viel Alkohol hinzu als nöthig, um eine homogene Flüssigkeit zu erzielen, so sieht man sofort einen, sich in etwa einer Minute vollziehenden Farbenwechsel auftreten. Derselbe bewirkt, dass die ursprünglich gelbliche Flüssigkeit in ein — je nach dem Bilirubingehalt mehr oder weniger sattes — Roth umschlägt. Fügt man nun concentrirte Salzsäure allmälig und tropfenweise hinzu, so geht die Flüssigkeit durch Violett, Blauviolett in ein intensives prachtvolles Reinblau über. In dieser Lösung, die unbegrenzte Zeit haltbar, ist ein Farbstoff enthalten, der je nach der Reaction, je nach der Natur der Lösungsmittel sich in verschiedenen und eigenartigen Tönen darstellt. Während die stark saure Lösung rein blau, die stark alkalische grün ist, zeigen annähernd neutrale Lösungen rothe Färbung. Dem entsprechend sieht man, wenn man in die blaue Lösung vorsichtig Kalilauge einfliessen lässt, eine chromatische Dreischichtung eintreten derart, dass ein schmaler rother Ring die untere grüne Zone von dem oberen Reinblau trennt.“ Hierzu sei bemerkt, dass zwischen dem grünen und dem rothen Gürtel noch eine, gewöhnlich zwar nur sehr schmale Schicht von rein gelber Farbe bemerkbar wird, welche einem schwachen Alkalescenzgrade zu entsprechen scheint; letzteres schliesse ich daraus, dass die stark alkalischen grünen Flüssigkeiten durch

---

1) P. Ehrlich, Sulfodiazobenzol, ein Reagenz auf Bilirubin. Sep.-Abdr. a. d. Centralbl. f. klin. Medic. 1883. No. 45.

einen geeigneten Säurezusatz dieselbe Färbung wie der schmale gelbe Reif in der Farbenreihe annehmen.

Seit mir vor etwa Jahresfrist Herr Professor Ehrlich die Reaction selbst vorführte und mich darauf aufmerksam machte, dass den einzelnen Färbungen wahrscheinlich auch charakteristische Lichtabsorptionen eigen seien, habe ich wiederholt die Probe durchspectroscopirt. Schon die ersten flüchtigen Beobachtungen zeigten, dass die sauren azurblauen Flüssigkeiten im Spectrum ein Band um *D* darbieten, welches sich, je nach der Farbensättigung der Lösung, mehr oder weniger nach E zu verbreitert und auf der beigegebenen Spectraltafel, als 1 bezeichnet, für zwei verschiedene Concentrationsgrade dargestellt ist. Misslicher gestaltete sich aber die Sache, als die Spectren für die rothen, gelben und grünen Farbstofflösungen entworfen werden sollten. Zu diesen Beobachtungen bedurfte es äusserst günstiger Beleuchtungen durch directes Sonnenlicht und reiner wie stark gefärbter Flüssigkeiten, die nicht immer leicht zu erhalten waren. Bevor ich zur Veröffentlichung meiner Ergebnisse schritt, habe ich deshalb mit mehreren Schülern meine ursprünglichen Aufzeichnungen an neuen Proben wiederholt controlirt und bin so jetzt im Stande, über die Einzelspectren der Reaction Folgendes zu berichten.

Wenn auf Zusatz eines Alkali's bei eintretender Aciditätsabnahme das Blau allmälig durch Violett in Roth übergeht, constatirt man eine Zunahme der Verdunklung auf der Strecke, welche zwischen dem bezeichneten Absorptionsbande der blauen Flüssigkeit und der Endabsorption am violetten Ende des Spectrums gelegen ist. Bei dem successiven Umschlag in's Roth wächst die Verdunklung von *D* bis *F* rascher an als zwischen *F* und *G*, so dass die Lösung, wenn sie eine schön violette Farbe angenommen hat, ungefähr das Spectrum 2 der Tafel aufweist. Je mehr der Purpur dann hervortritt, um so dunkler wird der Bezirk zwischen *F* und *G*, und wenn die Flüssigkeit schliesslich kirschroth erscheint, ist auch an dieser Stelle eine annähernd ebenso complete Absorption vorhanden als zwischen *D* und *F*. Ist durch stärkeren Alkalizusatz der Probe ein rein gelbes Colorit ertheilt, so bemerkt man bei allmäliger Verdickung der Schicht nichts von einer so rapiden Farbenauslöschung im Spectrum, welche nur die Strahlen zwischen *B* und *D* fortbestehen lässt. Im durchfallenden Lichte intensiv gelb gefärbte Lösungen absorbiren in beträchtlicherem Grade nur das violette Ende des Spectrums (cf. Spectr. 3 der Tafel), und bei Zunahme der Schichtendicke rückt von hier aus

die Endabsorption langsam nach dem Roth hin vor. Ist dagegen die Farbe der Flüssigkeit durch einen noch bedeutenderen Alkalizusatz in Grün verwandelt, dann erscheint gleichsam das umgekehrte Spectralbild als bei der rothen Lösung: man erkennt in verdünnten Lösungen unschwer das Absorptionsband des blauen Farbstoffes wieder, welches hier aber nicht dem violetten Ende des Spectrums zu verwaschen erscheint und bei stärkerer Concentration nicht mit der Endabsorption an diesem zusammenfliesst, sondern vielmehr dazu tendirt, mit der Endabsorption im Roth zu einer einheitlichen Verdunklung zu verschmelzen. So erscheint bei einer gewissen Schichtendicke der grünen Lösung Spectrum 4, indem es hier der zwischen den Theilstrichen 2 und 4,5 unserer Scala gelegene District des Spectrums ist, an welchem sich die Schwankungen in der Farbensättigung am auffälligsten bemerkbar machen.

Ehrlich weist in der citirten Schrift darauf hin, dass nur das Bilirubin (weder ein anderer isolirter Gallenfarbstoff, noch das Hydrobilirubin) mit Sulfodiazobenzol jene charakteristischen Farbenerscheinungen eingeht. Hieraus folgt schon, dass das bei dieser Reaction auftretende blaue Pigment kein Cholecyanin sein kann, und die beiden Farbstoffen eigenthümlichen Lichtabsorptionen bestätigen diese Annahme im vollen Umfange. Dagegen geben gewisse pathologische Urine, welche kein Bilirubin zu enthalten scheinen, bei Ausführung der Reaction ähnliche hervorstechende Farben als die soeben geschilderten. Ich habe letzthin keine Gelegenheit gefunden, solchen Urinen nachzuforschen, und muss deshalb unentschieden lassen, ob die Spectren eine Identität beider Farbenreihen ausweisen. Ich will aber diese Gelegenheit nicht vorübergehen lassen, ohne auf ein bandenreiches Spectrum aufmerksam gemacht zu haben, welches die violette ätherische Flüssigkeit bei Ausführung der von mir [1]) modificirten Hüfner'schen Glykocholsäuredarstellung aus Rindergalle darbietet. Das Spectrum ist auf unserer Tafel in Nr. 5 dargestellt. Es zeigt dasselbe eine unverkennbare Uebereinstimmung mit dem von Heynsius und Campbell [2]) abgebildeten Spectrum des alkoholischen Auszuges eingedickter Ochsengalle; nur durch den Einfluss des Lösungsmittels sind die Streifen in der ätherischen Lösung etwas mehr nach dem violetten Ende des Spectrums zu verschoben.

1) Vergl.-physiol. Studien. 2 Reihe. 1 Abth. 1882. S. 177 und Grundriss d. med.-chem. Analyse. Heidelberg. 1884. S. 46.

2) A. Heynsius u. J. F. F. Campbell, Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 4. 1871. Taf. 7.

Was den ersten Streifen dieses Spectrums anbelangt, so deutet derselbe auf einen Farbstoff in der Rindergalle hin, der von mir [1]) in den Lebern von Mollusken und Krebsen entdeckt, hier von sehr allgemeiner Verbreitung ist und C. A. Mac Munn Veranlassung gab [2]), von einer chlorophylloïden Substanz (Enterochlorophyll) zu reden. Ob das zweite und dritte Band dem Cholecyanin angehören, wie Heynsius und Campbell wollen, steht meines Erachtens noch sehr dahin und ebenso unverständlich ist, was der vierte Streifen im Spectrum zu bedeuten hat. Ohne dass weitere Anhaltspunkte gewonnen sind, ist die Analyse eines so complicirten Spectrums ein sehr missliches Unternehmen, und es bleibt keineswegs ausgeschlossen, dass sämmtliche vier Absorptionsbänder einen einheitlichen Pigmentkörper indiciren, der aber den Gallenfarbstoffen im engern Wortsinne unmöglich beizuzählen ist.

2. Zur Kenntniss der Hämoglobinderivate.

Ueber die Umwandlungen, welche das Hämoglobin durch gewisse Zusatzmittel erfährt, weichen die Angaben der Autoren so erheblich von einander ab, dass ich die Verpflichtung fühlte, mir durch eigene Beobachtungen ein selbständiges Urtheil über diese Veränderungen zu bilden.

Bevor ich meine Untersuchungen in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Leubuscher begann, habe ich die sich widersprechenden Ansichten zusammengestellt, und es mir bei den Versuchen besonders angelegen sein lassen, die Gründe für die so verschieden lautenden Meinungen aufzufinden. Die Widersprüche, welche wir gelöst zu haben glauben, betreffen die Verbindung des Hämoglobins mit Cyanwasserstoff, die Hämatine und vor allen den Körper, welcher von mir (S. 76) zur Erinnerung an seinen Entdecker als Hoppeïn bezeichnet wurde. Es würde jedoch schwerlich der Mühe lohnen, die vielen Differenzpunkte, welche in Hinsicht auf diese Substanzen geäussert sind, einer ausführlichen Besprechung zu unterwerfen. Ich werde mich deshalb auch darauf beschränken, diejenigen Angaben speciell namhaft zu machen, auf welche man sich am häufigsten beruft, und welche für die gang und gäbe gewordenen Auffassungen maassgebend geworden sind.

---

1) Unters. a. d. physiol. Inst. d. Univ. Heidelberg. Bd. 2. 1878. Taf. 1 u. Vgl.-physiol. Studien. 1 Reihe. 3 Abth. 1880. Taf. 1.

2) Cf. Krukenberg, Vergl.-physiol. Vorträge. Heft 3. Heidelberg 1884. S. 105.

A. Das Cyanwasserstoffoxyhämoglobin Preyer's.

Dass Hoppe-Seyler's Cyanwasserstoffhämoglobin kein einheitlicher Körper, sondern ein Gemenge von viel Oxyhämoglobin und wenig Cyanwasserstoffoxyhämoglobin gewesen ist, beweist seine Bemerkung: „dass die mit Blausäure versetzten Blutfarbstofflösungen bei keiner Concentration und Dicke der Schicht in den Lichtabsorptionsverhältnissen eine deutliche Abweichung von denen der reinen Oxyhämoglobinlösungen zeigen.“ [1]). Die allmälige Bildungsweise und das Spectralverhalten des reinen Cyanwasserstoffoxyhämoglobins ist zuerst von Preyer [2]), und zwar vollkommen correct dargestellt. Das diese Verbindung charakterisirende Eine breite Absorptionsband (vgl. Spectr. 12 auf Taf. II der Preyer'schen Abhandlung) besitzt eine wesentlich andere Lage als das des reducirten Hämoglobins und es ist somit ganz unverständlich, wie mehrere Forscher beide Stoffe auf das spectroscopische Verhalten hin ohne Weiteres identificiren konnten.

Obgleich Preyer angegeben hatte, dass sich eine Cyanwasserstoffoxyhämoglobinlösung bei gewöhnlicher Temperatur unverändert hält, reichliche Zufuhr atmosphärischen Sauerstoffes sie nicht in eine Oxyhämoglobinlösung zurückverwandelt, und dass sich dieselbe auch auf 40° schadlos erwärmen lässt, so glaubte ich doch — vornehmlich auf Grund meiner Erfahrung [3]), dass Turacinlösungen, welche auf Cyankalium - (wie auch auf Rhodannatrium- und Kochsalz-) Zusatz eine Verschiebung der Absorptionsbänder dem violetten Ende des Spectrums zu erfahren hatten, nach Entfernung der zugesetzten Salze auf dialytischem Wege wieder das normale Spectralverhalten darbieten, — mit Hoppe-Seyler [4]) annehmen zu sollen, dass das Cyanwasserstoffoxyhämoglobin eine leicht zersetzliche Verbindung sei. Ich stellte mir fernerhin vor, dass dasselbe, wie von anderer Seite thatsächlich behauptet war, vielleicht nichts anderes als reducirtes Hämoglobin sei, dessen Spectrum lediglich des Salzzusatzes wegen das breite Absorptionsband ungewöhnlich weit dem Violett zu verschoben zeige.

---

1) F. Hoppe-Seyler, Medic.-chemische Untersuchungen. Hft. 2. Berlin. 1867. S. 206.

2) W. Preyer, Die Blutkrystalle. Jena. 1871. S. 153 ff.

3) Vgl. - physiol. Studien. 2 Reihe. 2 Abth. 1882. S. 36 u. 37.

4) F. Hoppe-Seyler, Handb. d. physiol.- u. pathol.-chemisch. Analyse. 5 Aufl. Berlin. 1883. S. 296.

Bei meinen Versuchen wiesen die mit Cyankalium oder mit Blausäure versetzten Blutproben nach einiger Zeit übereinstimmend nur das eine, von Preyer entdeckte und für das Cyanwasserstoffoxyhämoglobin als charakteristisch angesehene Absorptionsband auf; dieses erschien in allen Proben nach tagelang unterhaltener Dialyse — zu Zeiten also, wo sämmtliche diffundibelen Salze aus den Flüssigkeiten auf's Vollständigste beseitigt waren, — noch durchaus unverändert. Diese Befunde erlauben uns zu schliessen, dass die Verbindungen der Blausäure wie des Cyankaliums mit dem Hämoglobin ungleich beständigere sind als diejenigen, welche jene Substanzen mit dem Turacin eingehen. Dass es sich nun aber bei diesen Versuchen um ein echtes Cyanwasserstoffoxyhämoglobin und nicht etwa um eine Verbindung der Blausäure mit reducirtem Hämoglobin handelte, ergibt sich mit Bestimmtheit weiterhin daraus, dass ein ausreichender Schwefelammoniumzusatz das Cyanwasserstoffoxyhämoglobin in reines reducirtes Hämoglobin überführt, und dass letzteres, mit Blausäure oder mit Cyankalium in Lösung gemischt vorhanden, abermals Cyanwasserstoffoxyhämoglobin liefert, sobald es durch Schütteln mit Luft in Oxyhämoglobin verwandelt ist.

Wie stimmt zu diesen Thatsachen die Angabe von Preyer (a. a. O. S. 154 u. 155), das Cyanwasserstoffoxyhämoglobin werde durch Schwefelammonium in einen neuen Körper (Cyanwasserstoffhämoglobin Preyer's, Cyanosulphäm Ray Lankester's) übergeführt? Man vergesse nicht, dass Preyer „immer eine minimale Menge von Schwefelammonium" zugesetzt hat, und dass er deshalb (wegen einer nur theilweise eintretenden Reduction) auch nothwendig zwei Absorptionen im Spectrum unterscheiden musste; nämlich 1. das angedeutete Band des Cyanwasserstoffoxyhämoglobins und 2. das Band des reducirten Hämoglobins. Meine Wiederholungen seiner Versuche, der genaue Vergleich von Spectrum 12 auf Tafel I des Preyer'schen Werkes mit den Spectren des Cyanwasserstoffoxyhämoglobins und des reducirten Hämoglobins lassen an der Richtigkeit dieser Deutung keinen Zweifel bestehen.

Spectrum 16 unserer Tafel verschafft uns einen guten Ueberblick. Während hier das von rechts nach links schraffirte Absorptionsband nebst den Endabsorptionen das Spectrum copirt, welches ausdialysirte wässrige Lösungen des Cyanwasserstoffoxyhämoglobins zeigen, versinnlicht das von links nach rechts schraffirte Band die breite Absorption des reducirten Hämoglobins.

Mit Hilfe dieses Combinationsspectrums wird es nicht schwer fallen: 1. die spectroscopischen Unterschiede zwischen dem Cyanwasserstoffoxyhämoglobin und dem reducirten Hämoglobin zu erkennen, und 2. zu verstehen, wie bei theilweiser Reduction der Cyanverbindung an dünnen Schichten der Lösung unbedingt ein zweibänderiges Spectrum auftreten muss.

B. Hämatin und Hämatoporphyrin.

Die Ansicht von der Umwandlung des Hämoglobins durch Säuren oder Alkalien lautet gegenwärtig fast allgemein dahin, dass dasselbe durch eine Säure in Säurehämatin, durch ein Alkali in Alkalihämatin übergeführt wird, und dass die Körper dieser beiden Hämatinreihen sich ähnlich wie die Acidalbumine und die Alkalialbuminate zu einander verhalten, indem sie sich nämlich durch einen Ueberschuss von Alkali resp. von Säure unmittelbar in einander überführen lassen. Eine Abweichung von der Regel pflegt man gewöhnlich nur dem Falle einzuräumen, wo die Umwandlung des Hämoglobins durch concentrirte Schwefelsäure geschieht; bei dieser Zersetzungsweise entsteht ein mit den übrigen Hämatinen nicht vergleichbarer Körper, welcher keine Rückverwandlung in jene gestattet, sich in saurer wie alkalischer Lösung den Hämatinen gegenüber grundverschieden ausnimmt und zum Unterschiede von diesen auch eisenfrei ist. Mit Hoppe-Seyler bezeichnen wir das aus dem Hämoglobin durch Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure hervorgegangene Product als Hämatoporphyrin.

Im Gegensatze zu dieser, hauptsächlich von Hoppe-Seyler entwickelten Theorie befindet sich eine Anschauung, welche von Preyer[1]) ausgesprochen wurde, und welche in Brücke[2]), der die Ausnahmestellung des Hämatoporphyrins (unter den Hämatinen) beständig ignorirt, noch heute ihren Vertreter findet. Preyer war der Ansicht, dass das Hämatin in saurer Flüssigkeit als eisenhaltige Verbindung überhaupt nicht zu existiren vermöge, dass dasselbe aber beim Uebersättigen der sauren Lösung mit Alkali das vorher abgeschiedene Eisen wieder aufnehme und so sich aus einem eisenfreien Hämatin (Hämatoïn Preyer's) zu richtigem (d. h. eisenhaltigem) Hämatin regenerire. Preyer lässt

1) W. Preyer, a. a. O. S. 181.

2) E. Brücke, Vorlesungen über Physiologie. 3 Auflage. Wien. 1881. Bd. I. S. 109.

die Frage offen, ob das Hämatoïn mit dem Hämatoporphyrin identisch sei; vergleicht man indess das von Preyer für das Hämatoïn entworfene Spectrum mit den bekannten Spectren des Hämatoporphyrins, so ist eine Identität von vornherein ausgeschlossen, und es fragt sich nur, warum das Spectrum des Hämatoïns nicht das des Hämatins ist. Hier sind zwei Möglichkeiten in Erwägung zu ziehen; denn entweder ist das Hämatoïn Preyer's — und das dürfte nach den, von ihm (a. a. O., S. 233) sorgfältig beschriebenen Spectraleigenthümlichkeiten der nachträglich ammoniakalisirten Lösung schon das Wahrscheinlichere sein — ein Gemisch von Säurehämatin mit Hämatoporphyrin oder dasselbe stellt ein Lösungsgemenge von Säurehämatin, wenig Oxyhämoglobin mit noch einem dritten Körper aus der Hämoglobingruppe dar, den ich keinen Grund kenne, nicht als reducirtes Hämoglobin anzusprechen.

Der erste Erklärungsversuch wird ohne Weiteres von denen verworfen werden müssen, welche der Meinung sind, dass das Hämoglobin lediglich durch concentrirte Schwefelsäure in Hämatoporphyrin überzuführen ist. Dem entgegen hat aber Hoppe-Seyler[1]) erst noch vor Kurzem gegen Nencki geltend gemacht, dass Hämatin wie Hämochromogen auch beim Erhitzen mit rauchender Salzsäure Hämatoporphyrin liefern, und ich finde an diesen Angaben nichts auszusetzen. Nach dem Kochen von Blut mit der reinen officinellen Salzsäure fand ich wiederholt sämmtliches Hämoglobin in Hämatoporphyrin umgesetzt, und ich bin, zwar bei weniger streng durchgeführten Versuchen, wo Blut mit Essigsäure bei gewöhnlicher Temperatur nur kurze Zeit in Berührung gelassen wurde, durch die Säureeinwirkung aus dem Hämoglobin entstandenen geringen Mengen von Hämatoporphyrin ganz regelmässig begegnet. Aus den Angaben von Preyer[2]) und Jaederholm[3]) ist ferner ersichtlich, dass geringe Mengen von Hämatoporphyrin constant auch bei Behandlung von Blut mit mehreren anderen organischen Säuren (z. B. Oxalsäure) schon in der Kälte und zwar nach sehr kurz dauernder Einwirkung aus dem Hämoglobin abgespalten werden.

Was die zweite von uns erwogene Möglichkeit anbelangt, der-

---

1) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 10. 1886. S. 331.

2) W. Preyer, Centralbl. f. d. medic. Wiss. 1871. No. 4.

3) A. Jaederholm, Zeitschr. f. Biologie Bd. 13. S. 193—255.

gemäss das Hämatoïn ein Gemisch von drei Substanzen sein würde, so muss ich auf die Erscheinungen zurückgreifen, welche bei der Hämatinisirung des Hämoglobins zur Beobachtung gelangen. Wenn man an einer mittelst des Hämoscopes günstig eingestellten Flüssigkeitsschicht spectroscopisch den Wechsel verfolgt, welcher sich in einer, mit starker Natronlauge vermischten Oxyhämoglobinlösung vollzieht, so bemerkt man zuerst eine Schwächung der beiden Oxyhämoglobinstreifen, darauf beginnt eine Beschattung des Roth unmittelbar vor *D*, und wenn das zweite Hämoglobinband kaum noch umgrenzt wahrzunehmen ist, constatirt man eine starke Verdunkelung im Spectrum zu beiden Seiten der *D*-Linie; diese Absorption setzt sich aus dem dunkeln Bande des Alkalihämatins und aus dem ersten Oxyhämoglobinstreifen zusammen. Erst wenn alles Oxyhämoglobin in Alkalihämatin übergeführt ist, rückt der für dieses typische Absorptionsstreifen von der D-Linie aus weiter in das Roth hinein [1]) vor. Anders gestalten sich die Verhältnisse, wenn das Blut mit einer schwachen Säure oder mit geringen Mengen von Substanzen versetzt wurde, welche das Hämoglobin ebenfalls in sogenanntes Säurehämatin verwandeln. In solchen Flüssigkeiten wird nicht zuerst der der E-Linie benachbart liegende Oxyhämoglobinstreifen bis zur Unkenntlichkeit gelichtet, sondern vielmehr das dem Roth zugewandte, an sich dunklere und schmälere Oxyhämoglobinband. Letzteres Verhalten gibt sich besonders schön an Blutflüssigkeiten zu erkennen, welche mit Kairin versetzt sind; aber auch an Blutwasser, welches mit wenig verdünnter Salzsäure, mit Alkohol oder mit sehr schwacher Natronlauge gemischt wurde, lässt sich leicht die Veränderung bis zu dem Punkte hin verfolgen, wo im Spectrum neben dem Bande vor *E* allein noch die beiden Hämatinstreifen (zwischen *C* und *D* sowie vor *F*) wahrzunehmen sind. Diese Beobachtung ist keineswegs neu; Hoppe-Seyler [2]) wie Nencki [3]) haben ihrer bereits Er-

1) Jaederholm (Die gerichtlich-medic. Diagnose der Kohlenoxydvergiftung. Berlin. 1876. S. 63—66) führt diese Erscheinung auf eine Verschiebung des Hämatinbandes durch sehr concentrirt angewandte Lauge zurück. Bei unseren Versuchen wanderte indess später das Band, und die verwendete Natronlauge war nicht so stark, dass es zur Bildung des Stokes'schen alkalischen Hämatins kam. Jaederholm's Erklärung trifft also für die obigen Versuche nicht zu.

2) F. Hoppe-Seyler, Medic.-chem. Untersuchungen. Heft 4. Berlin. 1871. S. 543.

3) M. Nencki, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 20. 1886. S. 338.

wähnung gethan. Ich vermuthe, dass diese Spectraleigenthümlichkeit dadurch bedingt ist, dass das Oxyhämoglobin als Vorstufe zum sauren Hämatin den Zustand des reducirten Hämoglobins zu durchlaufen hat, und es ist meines Dafürhaltens jedenfalls nicht ohne Weiteres auszuschliessen, dass ähnliche Complicationen in dem Hämatoïnspectrum Preyer's ihren Ausdruck finden. Erinnert man sich, wie z. B. die Peptone (vgl. S. 63) die unlöslichsten Stoffe mit in Lösung reissen, so wird die Frage nach einem Lösbarwerden des Oxy- wie des reducirten Hämoglobins für Aether oder Alkohol durch hinreichend vorhandene Mengen Hämatins einer specielleren Untersuchung nicht ganz unwerth erscheinen.

Bei diesbezüglichen Versuchen nun, wo ausdialysirtes Hämatin mit hämoglobinreichen Blutrückständen gemischt oder in Blut gelöst und darauf mit Alkohol, Aether oder Essigäther ausgezogen wurde, habe ich aber weder von Oxy- noch von reducirtem Hämoglobin die geringsten nachweisbaren Spuren in den Extractionsflüssigkeiten wahrzunehmen vermocht. In schlagender Form lehrt auch der folgende Versuch, dass das Hämatoïnspectrum Preyer's (a. a. O., Taf. II. Spectr. 3) nicht aus den Spectren des Säurehämatins, des Oxy- und des reducirten Hämoglobins zusammengesetzt ist. Durch Ansäuern von Blut mit Essigsäure und Ausschütteln mit Essigäther zeigte der braunrothe Essigätherauszug das von Preyer gezeichnete Spectrum seines Hämatoïns, jedoch mit dem Unterschiede, dass der Streifen hinter *D* bei allmäliger Verstärkung der Schichtendicke selbst für ein geübtes Auge nur sehr schwer zu erkennen war. Jetzt wurde die Essigätherlösung mit Salzsäure andauernd geschüttelt. Der Erfolg war, dass das Spectrum sich dergestalt änderte, dass der Streifen hinter *D* etwas deutlicher hervortrat. Weder Oxy- noch reducirtes Hämoglobin können demnach in der Essigätherlösung vorhanden gewesen sein, denn sonst hätten ja nach der Salzsäureeinwirkung die beiden Bänder zwischen *D* und *E* verschwinden und die beiden Hämatinstreifen allein übrig bleiben müssen. Ebensowenig als durch Salzsäure verändert sich das Spectrum der Hämatoïnlösung auf Zusatz von Schwefelsäure; auch nach reichlichen Mengen dieser in starker Concentration angewandten Säuren bleibt das Spectrum unverändert, wenn man eine gleichmässige Mischung der Essigätherlösung mit der Säure durch reichlichen Alkoholzusatz herbeiführt. Dagegen beobachtet man ein wesentlich anderes Spectrum, wenn man die Lösung des Hämatoïns in Essigäther durch alko-

holische Ammoniakflüssigkeit alkalisch macht. Wie Preyer richtig erkannte, ist (abgesehen von dem ersten dunklen Bande) das Spectrum dieser Lösung mit einer ammoniakalischen Hämatoporphyrinlösung identisch. Doch nicht immer hat dieser Versuch das nämliche Ergebniss zur Folge; oft bleibt nach dem Ammoniakzusatze nur das Spectrum des alkalischen Hämatins und somit das erste Band im Spectrum allein übrig. Jaederholm's Beobachtungen beschränken sich auf solche letzterer Art; aber wenn man scharf beobachtet, wird man nur in seltenen Fällen Andeutungen der ammoniakalischen Hämatoporphyrinstreifen ganz vermissen. Weit besser zwar gelingt der Versuch, wenn man statt einer Lösung des Hämatoïns in Essigäther eine solche in Alkohol durch Ammoniak überneutralisirt; dann beobachtet man allemal das ammoniakalische Hämatoporphyrinspectrum, weil in dieser Lösung das Hämatoporphyrin nicht (wie in der Essigätherlösung) durch den Ammoniakzusatz grösstentheils ausgefällt wurde. Nach dem Ammoniakalisiren einer Essigätherlösung des Hämatoïns zeigt häufig nur die unterstehende wässerige Flüssigkeit die Bänder des ammoniakalischen Hämatoporphyrins, und das beweist uns, dass das Hämatoïn Preyer's, das Hämatin Jaederholm's, nichts anderes als ein wechselndes Gemenge von Hämatin und Hämatoporphyrin ist.

Warum, so wird man aber fragen, entsprechen das zweite und dritte Band im Hämatoïnspectrum, welche hiernach doch dem sauren Hämatoporphyrin zugetheilt werden müssen, ihrer Lage nach so wenig den beiden Streifen des durch concentrirte Schwefelsäureeinwirkung auf Hämoglobin erhaltenen, in schwefelsäurehaltigem Alkohol gelösten Hämatoporphyrins? Warum gleicht das Hämatoïnspectrum nicht in allen Punkten dem sogenannten sauren Hämochromogenspectrum Hoppe-Seyler's, welches nach Jaederholm doch auch nur ein Gemenge von saurem Hämatin und Hämatoporphyrin darstellt?

Die Antwort auf diese Fragen ist folgende: Die wesentlich andere Lage der Hämatoporphyrinbänder in der Essigätherlösung des Hämatoïns rührt von Nebenumständen her, deren Einfluss auf das Hämatoporphyrinspectrum sich gegenwärtig zwar nicht näher definiren lässt, sich aber in gleicher Weise auch durch Verschiebung der Bänder an reinen Hämatoporphyrinlösungen (dargestellt durch Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure auf Hämoglobin) geltend macht. Aus Wasser, das durch anorganische Säuren (Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure) sauer oder (durch Ammoniak resp. Kali) alkalisch gemacht und in welchem hämo-

globin- wie hämatinfreies Hämatoporphyrin gelöst oder suspendirt vorhanden ist, nimmt Essigäther von diesem Stoffe so gut wie nichts auf. Nur organischsaures (oxalsaures, essigsaures etc.) oder durch Dialyse völlig neutral erhaltenes Hämatoporphyrin löst sich in Essigäther, weshalb man auch nach dem Ansäuern wässriger, oder alkalischer Lösungen resp. Suspensionen von Hämatoporphyrin mit Essigsäure u. dgl. m. beim Schütteln mit Essigäther einen schön fluorescirenden rosafarbigen Auszug erhält. Eine solche, wie es allen Anschein hat, essigsaure Hämatoporphyrinlösung weicht in ihrem Spectralverhalten von einer salzsauren und schwefelsauren Hämatoporphyrinlösung erheblich ab; ihr Spectrum zeigt einen sehr schmalen schwarzen Streifen zwischen *C* und *D*, ein breites Band unmittelbar hinter *D*, ein gleich dunkles dicht vor *E* und ein noch etwas breiteres und lichtärmeres zwischen *b* und *F*. Je nach dem lösenden Medium, der Reaction und der angewandten Essigsäuremenge weicht in diesem Spectrum die Lage der Bänder etwas untereinander ab; man begegnet aber den nämlichen Schwankungen und kann auch genau das eben beschriebene Spectrum beobachten, wenn man Hämoglobin durch siedende concentrirte Salzsäure oder durch concentrirte Schwefelsäure vollständig in Hämatoporphyrin verwandelt, dieses ausdialysirt und den neutral reagirenden Schlauchinhalt in Wasser, Alkohol oder Essigäther direct auflöst. In diesen sämmtlichen Hämatoporphyrinlösungen — vorausgesetzt, dass Wasser oder Alkohol das Lösungsmittel abgibt — erscheinen auf Schwefelsäure- oder Salzsäurezusatz die beiden typischen Spectralbänder des sauren Hämatoporphyrins, und dass dieses in der Essigätherlösung nicht in gleicher Weise geschieht, erklärt sich einfach aus der Unlöslichkeit der anorganischsauren Hämatoporphyrinverbindungen in dieser Flüssigkeit.

Indem ich so einerseits gezeigt habe, dass eine Essigätherlösung von Hämatoïn sich auf Ammoniakzusatz in eine unterstehende, rein ammoniakalische Hämatoporphyrinlösung und in eine obere Essigätherschicht, welche fast nur noch das breite Spectralband des alkalischen Hämatins darbietet, zerlegen lässt, und andererseits von mir der Nachweis geliefert wurde, dass reine (d. h. hämoglobin- wie hämatinfreie) neutral reagirende Hämatoporphyrinlösungen ohne oder nach Essigsäurezusatz das gleiche Spectralverhalten wie Hämatoïnlösungen zeigen, in welchen das Hämatinband fehlen würde, so sind wir zu dem Ausspruche berechtigt, dass das Preyer'sche Hämatoïn, identisch mit dem Hämatin Jaederholm's, ein Gemisch von Hämatin und von neu-

tralem resp. organischsaurem Hämatoporphyrin ist. Band I des Hämatoïnspectrums entspricht demnach dem sauren Hämatinstreifen + dem ersten Bande des Hämatoporphyrins, Band II und III sind die zweiten und dritten Streifen letzterer Substanz, und an dem vierten Bande betheiligen sich der vierte Streifen des Hämatoporphyrins und das zweite Band des sauren Hämatins wieder gemeinsam. So erklärt sich auch, dass bei der Bildung des Hämatoïns bald viel in Freiheit gesetztes Eisen nachzuweisen war, zugleich damit das Spectrum das zweite und dritte Band besonders deutlich darbot, und nach dem Ammoniakalisiren das charakteristische Spectrum des Hämatoporphyrins klar hervortrat (Preyer), bald dagegen nur wenig Eisen abgespalten war, und Hand in Hand damit das Spectrum nach dem Ammoniakzusatze in das des alkalischen Hämatins überging (Jaederholm.)

Wenig annehmbar erscheint mir die zweite der oben erwähnten Auffassungen Preyer's, der gemäss es einfach einer Abstumpfung der zugesetzten Säure bedürfe, damit eisenfreies Hämatin sein Eisen wieder aufnehme und so in richtiges Hämatin zurückverwandelt werde. Eine solche Annahme würde im directen Gegensatze zu den Erfahrungen der Chemie stehen. Bei keiner einzigen organometallischen Verbindung – und am allerwenigsten bei den Ferrocyanen, welche Hoppe-Seyler als dem Hämoglobin allein vergleichbar erachtet, oder bei dem kupferreichen Turacin, welches dem Oxyhämoglobin spectroscopisch so ähnlich und wie dieses ein vitales Product ist — kehrt nach einmal stattgefundenem Metallverluste das Element in die alte gesicherte Stellung des Molecüls zurück. Stets, wo es gelang, Metalle von organischen Radicalen durch Säuren abzutrennen und durch nachherige Neutralisation der Säure den früheren Körper wiederzugewinnen, lagen keine organometallische Verbindungen, sondern nichts anderes als organische Metallsalze vor. Diese Vorstellung fand man so durchgehends bestätigt, dass sie mit vollem Rechte geradezu als ein Axiom gilt. So ist z. B. bei den Hyalinen, wo die Affinität und feste Bindung des Eisens doch so sehr überraschte, kein einziger Untersucher auf den Einfall gekommen, eine intraradicale Wanderung des Eisens anzunehmen, und auch bei den Hämatinen fehlt für eine solche Annahme jedweder Anhaltspunkt. Ich führe nur an, dass aus Hämatoporphyrinlösungen auf Zusatz irgendwelcher Eisenverbindungen — ich versuchte Eisenchlorid, Ferricum- und

Ferrosumsulfat — niemals Hämatinlösungen hervorgehen, dass dagegen aus Alkali- wie aus Säurehämatinen, welche durch tagelange Dialyse in fliessendem und später in destillirtem Wasser aller diffundibelen Beimengungen verlustig gegangen sind, durch einen minimalen Zusatz der officinellen reinen Salzsäure (deren Eisengehalt doch nur ein verschwindend geringer auch gegenüber dem sehr unbedeutenden Gehalte des Hämoglobins ist) sofort das Säurehämatinband im Spectrum wiedererscheint. Niemals zeigen reine ausdialysirte Hämatinlösungen das spectroscopische Verhalten des Hämatoporphyrins, sondern das des Alkalihämatins. Diesen Erfahrungen entnehmen wir, dass qualitative spectroscopische Differenzen zwischen den eigentlichen Hämatinen und anderen, nur hypothetisch angenommenen eisenfreien Hämatinen, welche kein Hämatoporphyrin sind, niemals gesehen wurden. Die Hoppe-Seyler'sche Lehre von den Hämatinen dürfte die Feuerprobe bestanden haben und an dem Grundsatze, dass sich die Alkalihämatine zu den Säurehämatinen analog verhalten wie das Hämatoporphyrin in alkalischer Flüssigkeit zu dem in saurer, wird es nichts abzuändern geben.

Herrn Dr. Leubuscher lag daran zu wissen, wie sich die antipyretischen Mittel dem Blutfarbstoff gegenüber verhalten, und wir liessen deshalb auf verschiedene Blutproben Kairin, Antipyrin, weinsaures Thallin, Salicylsäure und salzsaures Chinin einwirken. Die wässrigen Lösungen des Antipyrins reagirten schwach sauer, die des weinsauren Thallins stark sauer und eigneten sich deshalb viel weniger gut zu den Versuchen als das Kairin, welches mit Wasser eine vollkommen neutral reagirende Lösung liefert. Die Ergebnisse waren kurz folgende: Mit salzsaurem Chinin versetztes Blutwasser wies keine Veränderung des Hämoglobins auf; auch Antipyrin führte innerhalb mehrerer Tage keine Hämatinisirung des Hämoglobins herbei, welche durch Salicylsäure langsam, durch Kairin wie Thallintartrat verhältnissmässig rasch erfolgte.

Spectr. 17 und Spectr. 18 unserer Tafel stellen die durch Kairin und durch Thallintartrat erzeugten Spectren des Blutes dar. Bei der neutralen Reaction der Kairinlösung war die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, dass es sich bei der Einwirkung dieser Substanz auf das Hämoglobin nicht um eine Ueberführung desselben in das sogenannte Säurehämatin, sondern um eine eigene Kairinverbindung des Hämoglobins handele. Nachdem wir uns aber an tagelang ausdialysirtem Kairinblute überzeugt haben, dass nach Beseitigung sämmtlichen, nicht chemisch fester gebundenen Kairins die Flüs-

sigkeit noch dasselbe Spectralverhalten als vor der Dialyse aufweist, auf Schwefelammonzusatz ein Spectrum erscheint, welches nur den Schluss auf eine Mischung von reducirtem Hämoglobin und Hämochromogen gestattet, und schwacher Natronzusatz das erste dunkle Hämatinband im Roth sofort in den Alkalihämatinstreifen überführt, glauben wir doch, an einer directen Hämatinisirung des Hämoglobins durch das Kairin festhalten zu müssen. Dass in den Spectren 17 und 18 die Bänder α und β die des sogenannten Säurehämatins, γ und δ die des Oxyhämoglobins sind, steht nach den Ergebnissen der Reductionsversuche ausser Frage.

C. Die Eigenschaften des Hoppeïns.

Für die Individualität des Hoppeïns haben ausser Hoppe-Seyler eine lange Reihe von Forschern die Lanze eingelegt, und es ist gewiss ein grosses Glück, dass die fulminante Entdeckung dieses Körpers keine Bedeutung für die forensische Chemie erhalten und so keine practische Consequenzen nach sich ziehen konnte; denn sonst wäre bei der Sucht, jede vermeintliche theoretische Einsicht auch sofort practisch zu verwerthen, ernstlich zu befürchten gewesen, dass dadurch noch mancher Unschuldige zu jahrelanger Haft verurtheilt oder sogar um sein Leben gekommen wäre. Dass das Hoppeïn zu Recht bestand, hat zuletzt Niemand mehr bezweifelt! Hatte doch G. Hüfner, indem er das Hoppeïn krystallisirt gewann, selbst den Ungläubigsten bekehrt, und Hoppe-Seyler[1]) durfte daher seiner aufrichtigen Freude über diese Vaterschaft unverhohlen Ausdruck verleihen. Ob Hoppe-Seyler indess nicht im Stillen dasselbe dunkle Gefühl beschleicht, welches Pringsheim und Engelmann nach ihren Chlorophyllarbeiten empfinden, und welches unentschieden lässt, ob es sich in dem gegebenen Falle um eine grossartige Errungenschaft der Biologie oder nur um eine grundlose Behauptung handelt, mag hier unerörtert bleiben.

Ich habe noch 1878 aus Hoppe-Seyler's eigenem Munde die Worte vernommen, er wisse nicht, ob sein Methämoglobin ein Gemisch von Oxyhämoglobin und Hämatin oder ein einheitlicher Körper sei, und in vollem Einvernehmen mit dieser Aeusserung befinden sich mehrere Bemerkungen in seinen, aus dieser Zeit datirten Schriften. Jeder kalt prüfende und kritisch bleibende

1) F. Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 10 1886. S. 333.

Beobachter wird fragen, warum bei einer solchen Ungewissheit ein neuer Name geschaffen wurde? Uns interessirt jedoch noch weit mehr die Frage, wann und warum hat Hoppe-Seyler seine Ansicht später geändert, welches sind die Motive, die ihm sein Methämoglobin später nicht mehr als Missgeburt, sondern als ein vielversprechendes, durch und durch gesundes Erzeugniss erscheinen liessen? Sind es vielleicht die Krystalle Hüfner's? Ich halte Hoppe-Seyler für zu verständig, als dass er diesen irgendwelche Bedeutung beilegen könnte. Ist das Hoppeïn, wie Hoppe-Seyler anfangs muthmasste, ein wechselndes Gemenge von Hämatin und Hämoglobin, warum sollte dasselbe nicht zum Krystallisiren zu bringen sein? Den Hüfner'schen Krystallen ist demnach kein Werth zuzuschreiben, und da ich auch in Hoppe-Seyler's späteren Schriften keine bindende Gründe verzeichnet finde, welche den Umschwung seiner Ansicht verrathen, so bleibt allein der Schluss übrig, dass die Arbeiten A. Jaederholm's[2]) auf ihn bestimmend eingewirkt haben, und somit er der Welt nur indirect, in re vera aber Jaederholm ihm den Kopf verdreht hat.

Um diese Angelegenheit, welche bei der Entstellung ihrer offenbaren Einfachheit durch den Ballast der angehäuften Literatur sehr wenig Erquickendes bietet, so kurz als möglich abfertigen zu können, muss ich mich auf die Widerlegung der von Jaederholm vorgebrachten Beweisgründe beschränken; dass man übrigens in vielen späteren Publicationen, so in denen von v. Mering, von Saarbach nach Argumenten für die Existenz unseres Hoppeïns ganz vergebens sucht, muss ich dem Leser selbst festzustellen überlassen.

Für die Eigenartigkeit des Hoppeïns, für seine Verschiedenheit einerseits vom Hämatin (Oxyhämatin Jaederholm's), andererseits vom Oxy- resp. vom reducirten Hämoglobin macht Jaederholm folgende Punkte geltend:

1. sagt Jaederholm, dass der erste Streifen des mit Säure bereiteten Hoppeïns zwar der des Säurehämatins sei (und das Gleiche wird auch für Band 4 zu gelten haben, welches J. bei Abfassung seiner ersten Schrift noch gar nicht kannte!), die Bänder 2 und 3 aber unmöglich die des Oxyhämoglobins darstellen könnten, da von diesen das dritte dunkler als das zweite sei. Diese Behauptung trifft keineswegs immer zu. An Hämoglobin-

2) A. Jaederholm, Zeitschr. f. Biologie. Bd. 13. S. 193—255 u. Bd. 16. S. 1—23.

harnen, welche nach Hoppe-Seyler — ich bin zwar anderer Meinung! — doch ausnahmslos durch Hoppeïn gefärbt sein sollen, ist bald Band 2, bald Band 3 das dunklere, und dasselbe beobachtet man an Hämoglobinlösungen, welche, einerlei auf welche Art, langsam hämatinisirt werden; unter Umständen (vgl. S. 85) ist an solchen Lösungen von beiden Streifen selbst nur das erste Oxyhämoglobinband noch deutlich wahrzunehmen.

Wenn ich die von J. hervorgehobenen Spectralerscheinungen der Einfachheit wegen auf das unter Säureeinfluss unvollständig hämatinisirte Hämoglobin (d. i. Hoppeïn) im Ausdruck beschränkte und nicht auf ganz gleiche Producte, welche durch Einwirkung anderer Substanzen aus dem Hämoglobin hervorgegangen sind, mitbezog, so kann ich dieses Vorgehen durch zweierlei Umstände rechtfertigen. Ich habe nämlich erstens zu bemerken, dass von einem alkalischen, neutralen oder sauren Hoppeïn, wie J. und viele andere glauben, überhaupt keine Rede sein kann; es lässt sich nur sagen, dass die unvollständige Hämatinisirung des Hämoglobins durch ein Alkali, durch eine Säure resp. durch neutral reagirende Mittel bewerkstelligt wurde. Damit eines von den unzähligen Gemischen, welche unter die Rubrik des Hoppeïns fallen, entsteht, bedarf es aber unbedingt eines nur so geringen Säure- oder Alkalescenzgrades, dass nicht sämmtliches Hämoglobin dadurch in Hämatin umgewandelt wird. Zweitens betone ich, dass die Bildung des Hoppeïns aus dem Hämoglobin durch nicht oxydirend wirkende (Ferrosumsulfat) oder den Lösungen keine saure Reaction verleihende Substanzen (Ferridcyankalium, Kairin) nur den Hämatinisirungsprocess des Hämoglobins als solchen in erwünschter Weise näher beleuchten, aber nichts zur Erhärtung der Annahme von der Individualität des Hoppeïns beizutragen vermag.

2. sagt J.: „Man mag zur Ueberführung des Oxyhämoglobins in Hoppeïn, welches Mittel man will und in welcher Stärke es sei, anwenden, so tritt doch nie der Fall ein, dass die Streifen im Grün ganz und gar verschwinden, und immer zeigt das Absorptionsspectrum der Lösung bei passender Verdünnung ein paar schwächere Streifen im Grün.“ Dieser Satz besagt nichts anderes, als eine Ueberführung des Hämoglobins in Hämatin ist überhaupt eine Unmöglichkeit! J. übersieht dabei völlig, dass es bislang noch Jedem geglückt ist, Hämoglobin durch einen ausreichenden Säure- oder Alkalizusatz in saures resp. alkalisches Hämatin überzuführen, und alle Mittel, welche aus Hämoglobin Hoppeïn werden

lassen, vermögen auch jenes in reines Hämatin zu verwandeln, vorausgesetzt allerdings, dass die Menge des Zusatzmittels eine genügende ist, und dass die Umsetzung nicht vorzeitig unterbrochen wird. J. hätte sich nur daran zu erinnern brauchen, dass Hoppe-Seyler der Meinung von Gamgee, dergemäss bei Behandlung von Blut mit Nitriten Hoppeïn entstehe, seine Zustimmung verweigert hat; Hoppe-Seyler wandte von den Salzen eben mehr als Gamgee an und sah deshalb nur das reine Endproduct der Umwandlung (Hämatin) auftreten.

3. will J. ein zweites, ganz charakteristisches Spectrum des Hoppeïns durch Alkalizusatz erhalten haben. Wird eine Hoppeïnlösung „alkalisch gemacht", sagt J., „so geht sie von Gelbbraun in Roth über und das Absorptionsspectrum zeigt nun drei Streifen: einen schwachen im Orange, nahe bei der *D*-Linie" — das ist nichts anderes als der Alkalihämatinstreifen! — „und zwei Streifen im Grün auf der Stelle der Oxyhämoglobinstreifen." Ich möchte wissen, was man „bei Verwendung unnöthiger Ueberschüsse der Reagentien" Anderes zu sehen verlangen konnte, wenn man die Ueberzeugung vertritt, dass das Hoppeïn ein Gemisch von Hämatin und Hämoglobin ist!

4. gelangt J. durch eine Reihe von Erwägungen, denen das Prädicat scharfsinnig nicht vorzuenthalten ist, die man aber ebenfalls im Originale nachlesen wolle, zu der Auffassung, das Hoppeïn sei sauerstoffreicher als das Oxyhämoglobin, es sei ein Peroxyhämoglobin. „Der Weg vom Hämoglobin zum Hämatin bei Spaltung mit Säuren führt" nach J. „durch einen höheren Sauerstoffbindungsgrad, durch ein Peroxyhämoglobin," identisch mit dem Hoppeïn. Gegen diese Auffassung sind von Hoppe-Seyler u. A. mehrere stichhaltige Einwände vorgebracht, und es ist dieselbe heute auch wieder allgemein verlassen. Auf ein unbestreitbares Factum jedoch hat J. bei seinen Auseinandersetzungen grosses Gewicht gelegt, und diesem müssen hier noch einige Worte gewidmet werden.

Bereits vor J. hatten Gamgee, Munnich und Preyer beobachtet, dass, wenn unvollständig hämatinisirte Lösungen von reducirtem Hämoglobin, welche also unter die Gruppe des Hoppeïns gehören, mit Alkalien (so auch mit Schwefelammonium) versetzt werden, die beiden Oxyhämoglobinstreifen unverkennbar wiedererscheinen, und dass diese erst in einem späteren Stadium der Einwirkung dem einheitlichen Spectralverhalten des Alkalihämatins resp. (auf Schwefelammoniumzusatz) einem complicirteren

Spectrum, in welchem das Band des reducirten Hämoglobins unterscheidbar bleibt, Platz machen. Diese Beobachtungen deutet J. als eine Reduction seines Peroxyhämoglobins zu Oxyhämoglobin, doch gleichwohl mit Unrecht. Der Sauerstoffspender ist bei diesem Vorgange lediglich der eine Component des Hoppeïns, nämlich das Hämatin, der Erzeuger des Oxyhämoglobins ausschliesslich das im Hoppeïn mitenthaltene reducirte Hämoglobin. Mischt man reine Säurehämatinlösungen mit reducirtem Hämoglobin und setzt Alkali zu, so begegnet man regelmässig diesem Wechsel und die Entstehungsweise des Säurehämatins vollzieht sich in genau der umgekehrten Art (vgl. S. 85). Auch diese von J. so sehr in den Vordergrund geschobenen sogenannten Reductionsversuche besagen demnach für seine Auffassung garnichts.

Dass die Spectren der Hämatin- + Hämatoporphyringemenge (Hämatoïn) mit denen der Gemische von Hämatin, Oxy- und reducirtem Hämoglobin (Hoppeïn) oft direct ununterscheidbar sind und erst nach dem Alkalisiren oder nach dem Zusatze von Reductionsmitteln sich als unterschiedlich zu erkennen geben, ist ein reiner Zufall, der aber zur Quelle mehrfacher Irrungen wurde. Bei Berücksichtigung der sehr differenten Löslichkeitsverhältnisse Beider hätte so etwas nicht gut vorkommen können. Verwechslungen von Gemischen, welche aus Hämatin und Hämatoporphyrin bestanden, mit solchen, welche Hoppeïn (Hämatin + Hämoglobin) waren, haben zweifellos Preyer getäuscht, indem er eine Synthese des Hämatins aus Hämatoporphyrin und Eisen annahm, und Jaederholm führte die nämliche Verwechslung noch weit mehr in die Irre. Indem dieser ein aus Hämatin und Hämatoporphyrin bestehendes Gemenge für Hoppeïn hielt, liess er das Hämoglobin sich aus Hämatoporphyrin regeneriren. Bezüglich dieser Irrthümer bitte ich S. 217 ff. der ersten Jaederholm'schen Abhandlung zu vergleichen; ich verzichte darauf, derartige Fehler in allen ihren Schwächen zu beleuchten.

Dieses ist alles, was bei den Einheitsbestrebungen bezüglich der Hoppeïne an den Tag gekommen ist. Die Jaederholm'schen Arbeiten über das Hoppeïn erinnern mich lebhaft an die Arbeiten von Th. Eimer über die Innervationsverhältnisse bei den Medusen; die Beobachtungen sind, von Kleinigkeiten abgesehen, richtig, die Erklärungen aber vom Himmel geholt. Von den viel gerühmten charakteristischen Reactionen des Hoppeïns hat sich auch keine einzige als solche bewährt. Ein Stoss umfangreicher Schriftstücke ist allein zurückgeblieben, nichts dahinter,

und wir alle noch so klug als vor Hoppe-Seyler's erster Arbeit 1864.

Nachdem so nachgewiesen ist, dass sämmtliche Bemühungen, den Hoppeïnen eine gesonderte Stellung in der Reihe der Hämoglobinderivate zu sichern, Schiffbruch erlitten, wird man nach Gründen sich umzusehen haben, aus welchen die gemischte Natur des Hoppeïns unabweigerlich hervorgeht.

Ist es mir nun auch nicht gelungen, ein Extractionsmittel ausfindig zu machen, welches Hämatin von Hämoglobin (ohne dieses letztere irgendwie zu verändern!) zu trennen erlaubt, so glaube ich doch, dass die im Vorstehenden bereits zur Erörterung gelangten Erfahrungen die gemischte Natur des Hoppeïns vollkommen klarstellen. Vor allem ist das ganz verschiedenartige spectroscopische Verhalten von Flüssigkeiten, welche als Hoppeïnlösungen ausgegeben sind, zu berücksichtigen. In diesen fand man neben den beiden Hämatinbändern bald nur den ersten oder den zweiten Oxyhämoglobinstreifen, bald nur das Band des reducirten Hämoglobins vor, und den Beschreibungen resp. Zeichnungen lässt sich weiterhin entnehmen, dass auch diese sämmtlichen drei Hämoglobinbänder zu sehen gewesen sind. Hiernach erhellt zur Genüge, dass die Ansichten über das, was ein wahres Hoppeïnspectrum sei, sehr verschieden lauten mussten, und vergleicht man die Angaben der Autoren untereinander, so kommt man auf nichts anderes als auf das Hämatinspectrum als Zeichen eines einheitlichen Körpers zurück. Fasst man, wie es meines Dafürhaltens gar nicht anders sein kann, das Hoppeïn als ein Gemisch auf, so bleibt man jedenfalls vor so widersinnigen Ideen bewahrt, welchen hier selbst die umsichtigsten Forscher bei ihren Speculationen ganz unvermerkt zum Opfer gefallen sind.

3. Zur Harnindicanprobe.

In meiner ersten Abhandlung[1]), welche die Harnindicanreaction berücksichtigt, finden sich mehrere Spectren verzeichnet, welche purpurrothe, von dem gewöhnlichen blauen und rothen Indicanfarbstoffe[2]) verschiedene Pigmente betreffen, die bei Ausführung dieser Probe an pathologischen Harnen zur Erscheinung

1) Zur Charakteristik einiger physiol. und klinisch wichtigeren Farbenreactionen. Erste Abhandlung a. a. O., S. 193—195 u. Taf. 6. Spectr. 11, 12 u. 13.

2) Vgl. Krukenberg, Grundriss etc. Taf. 4. Spectr. 14.

kommen und in Aether wie Chloroform übergehen. Das spectroscopische Verhalten dieser Pigmente ist einerseits ein so einfaches, andererseits aber ein so typisches, dass Verwechslungen der Farbstoffe unter sich oder mit anderen des gleichen Vorkommens vollständig ausgeschlossen bleiben.

Ich bin diesen Farbstoffen bei späteren Prüfungen pathologischer Urine mehrfach wiederbegegnet; es fanden sich bald nur einer, bald aber auch mehrere derselben vergesellschaftet vor und waren auch in ihrem gemischten Vorkommen spectroscopisch leicht von einander zu unterscheiden. Färbungen, welche in Aether und Chloroform übergehen, sich aber auf die bekannt gegebenen Pigmente nicht zurückführen lassen, sind von mir auch bei späteren Indicanprüfungen nicht beobachtet.

Die Ergebnisse dieser Spectraluntersuchungen werden allerdings erst dann an theoretischem wie practischem Werthe steigen, wenn die Spectralverhältnisse der in Urinen auftretenden, chemisch rein erhaltenen Indolkörper (Indol, Skatol, Skatolcarbonsäure [1]) gut bestimmt sein werden. Ich zweifle nicht, dass schon jetzt derartige Untersuchungen manchen werthvollen Aufschluss liefern würden, sowohl bezüglich der Deutung der aus Harnen abgeschiedenen Pigmente als auch ihrer, an bestimmte Krankheitsformen gebundenen vermehrten Bildung und Ausscheidung. Mir hat sich bislang keine Gelegenheit geboten, die gefärbten chemisch reinen Indolderivate einer spectroscopischen Untersuchung zu unterwerfen. Dieses hindert indess kaum, derartigen Versuchen gewissermaassen vorzugreifen und auf ein Spectrum hinzuweisen, welches einem anderen Purpurfarbstoffe angehört, der ebenfalls bei der Indicanreaction häufig zur Beobachtung gelangt, nicht aber in Aether oder Chloroform übergeht, sondern in der wässrigen Flüssigkeit zurückbleibt. Auch letztere Lösung ist wenig beständig; schon nach wenigen Stunden findet man den Farbstoff zersetzt, und damit er überhaupt sich bildet, muss bei Anstellung der Probe ein grösserer Chlorkalkzusatz sorgfältig vermieden werden. Dieses Farbstoffes, den ich in besonders grosser Quantität in einem diabetischen Harne (welcher sich mit Eisenchlorid intensiv braunroth färbte) antraf, ist bereits früher von mir [2]) Erwähnung geschehen; hier sei nur sein Spectrum (vgl. Spectr. 6 unserer Tafel) nachgetragen, wel-

---

1) Vgl. E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 8. 1884. S. 417—466 u. Bd. 9. 1885. S. 8—22.

2) Arch. f. path. Anat. Bd. 101. 1885. S. 556 u. 558 Anm. 1.

ches zwei Absorptionsbänder (ein dunkles bei B und ein schwaches zwischen D und E) aufweist, von denen aber keines der Bänder auf die Anwesenheit eines der spectroscopisch besser bekannt gewordenen Harnindicanfarbstoffe zu schliessen gestattet.

4. Die beiden Reactionsphasen der Adamkiewicz'schen Probe.

Bei der grossen Wichtigkeit, welche der Adamkiewicz'schen Reaction (als der einzigen Methode, welche uns über die An- oder Abwesenheit der labilsten Atomgruppe im Eiweissmolecül Aufschluss gewährt) in der Chemie der Albuminstoffe zugestanden werden muss, erscheint es geboten, alle Irrthümer und Zweifel zu beseitigen, welche hinsichtlich des Zustandekommens und der Beständigkeit dieser Probe noch immer verbreitet sind.

Erst bei dem ausgedehnteren practischen Gebrauche hat sich ergeben, dass der charakteristische Farbenton, welcher bei dieser Probe erhalten wird, jener eigenthümliche Purpur ist, welcher die Färbung bei der Pettenkofer'schen Gallensäureprobe oft täuschend nachahmt. Adamkiewicz[1]) hatte die Purpurfärbung nur als eine Theilerscheinung bei der Reaction aufgefasst; er legte ein weit grösseres Gewicht auf die Beobachtungen, aus welchen folgen sollte, „dass Lösungen von Eiweiss in concentrirter Schwefelsäure ausser der Eigenschaft zu fluoresciren fast alle Farben des Spectrums annehmen, und diese in den mannigfaltigsten Abstufungen ihrer Sättigung und Tiefe darbieten können." Diese Farben sollten in Reihen auftreten, „die mit Grün beginnen, in Gelb, Orange und Roth sich fortsetzen und mit Violett in allmälig sinkender Stärke endigen, wenn eine bestimmte, bleibende Quantität der Säure zum Lösungsmittel einer beständig zunehmenden Eiweissmenge verwendet wird."

Ich lasse es vorläufig dahingestellt, inwiefern diese Darstellung Adamkiewicz's den Thatsachen entspricht und wie viel daran Phantasie ist; jedenfalls sind seine specielleren Ausführungen obiger Sätze nicht auf alle echten Eiweisssubstanzen anwendbar, sondern beziehen sich nur auf eine derselben (Eieralbumin), und selbst für diese besitzen sie kein specielleres Interesse. Muss doch schon die Frage unentschieden bleiben, ob für

1) A. Adamkiewicz, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9. 1874. S. 156—162 u. Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak. Bd. 3. 1875. S. 412 bis 426.

den angeblichen Farbenwechsel der durch die Adamkiewicz'sche Reaction indicirte Atomcomplex allein verantwortlich zu machen ist, oder ob sich die bei der Kochprobe mit Salzsäure färbende Atomgruppe daran ebenfalls betheiligt resp. ob es nicht ganz andere Atomcomplexe im Eiweissmolecül sind, welche es bei der Reaction nicht direct zu einem reinen Purpur, sondern zu diesem erst nach Durchlaufen jener Vorstufen kommen lassen. Bei der Kochprobe mit concentrirter Salzsäure hängen die zwischen Blau und Roth wechselnden Nuancen lediglich von der Natur des zu dem Versuche verwendeten Eiweisskörpers[1]) ab, und ebenso dürfte es sich bei der Schwefelsäurereaction verhalten. Doch dieses sind für uns noch verhältnissmässig unwesentliche Dinge.

Adamkiewicz schliesst den einen seiner Artikel mit den seltsamen Worten, es könne kaum zweifelhaft sein, dass es sich bei seiner Reaction „nicht um ein Spectrum von eigentlichem Eiweiss, sondern um das gewisser Zersetzungsproducte desselben handelt, die mit bereits bekannten Farbstoffen der Galle und des Harnes zum mindesten auffallende Aehnlichkeit zeigen." An derartige Uebereinstimmungen ist heute, wo wir die Spectren besser als dazumal kennen, nicht im Entferntesten mehr zu denken. Bei der Pettenkofer'schen Gallensäurereaction, bei der Gmelin'schen Gallenfarbstoffprobe und ebenso bei dem Cholestearinnachweise mittelst concentrirter Schwefelsäure und Chloroform macht der Process nicht bei der Bildung eines einzigen Farbstoffes Halt, sondern das primäre Product erfährt weitere Umsetzungen zu andersartigen Pigmenten, Umsetzungen aber, welche, wie das Spectralverhalten der Farbstofflösung beweist, ebenso regelrecht erfolgen als die Entstehung des ersten Farbstoffkörpers aus dem Chromogen. Diese Farbenreactionen lassen sich demnach nicht in der einfachen Weise wie z. B. die Biuretprobe des Harnstoffes[2]), der Eiweisssubstanzen und der Peptone mit einander unmittelbar vergleichen, sondern hier muss man genau wissen, welches Product der einen Reaction dem einer anderen an die Seite gestellt

1) Vgl. S. 6 u. J. Dogiel, Arch. f. d. ges. Physiologie. Bd. 19. 1879. S. 335—342.

2) Um frühere Angaben von mir (S. 42 u. Arch. f. path. Anat. Bd. 101. S. 553 Anm. 1) controlirbar zu machen, habe ich auf der Tafel das Spectrum (in Nr. 10) der an reinem Harnstoff ausgeführten Biuretprobe nachgetragen, welches ich mit dem Spectr. 32 der Tafel in meiner ersten Abhandlung über die Farbenreactionen zu vergleichen bitte.

werden soll. Die Adamkiewicz'sche Reaction macht nach der Aussage ihres Entdeckers nach dieser Richtung hin eine bemerkenswerthe Ausnahme, sowohl von der Gallensäureprobe, wie von der der Gallenfarbstoffe und des Cholestearins. Adamkiewicz sagt[1]): „Die Farben des Albumins sind von einander unabhängige und beständige Producte, die Farben des Cholestearins dagegen nur vorübergehende Phasen einer Reaction." Diese Angabe ist eine gänzlich unrichtige.

Würde Adamkiewicz schärfer und rascher beobachtet haben, so hätte er sehen müssen, dass das Spectrum seiner Reaction anfangs (Spectr. 7 unserer Tafel) durch ein Band zwischen *D* und *E* ausgezeichnet ist, welchem sich ein erst im Entstehen begriffenes zweites Band zwischen *E* und *F* hinzugesellt; letzteres Band erreicht nach einiger Zeit die Intensität des ersteren, überholt dieses allmälig (Spectr. 8) und bleibt schliesslich allein zurück. Wie beim Vergleich von Spectr. 8 und Spectr. 9 ersichtlich wird, nehmen die Absorptionsbänder nicht bei allen Proben im Spectrum die nämliche Lage ein; je nachdem der Concentrations- und Aciditätsgrad der Flüssigkeit ein höherer oder geringerer ist, treten Verschiebungen der Bänder ein. Adamkiewicz kannte allein das zweite der beiden Absorptionsbänder (zwischen *E* und *F*), und daher schreibt sich auch die irrige Vorstellung, welche er von der Einwirkung der Schwefelsäure auf die Albuminstoffe gewonnen hat. Der Ausfall der Reaction ist, wie aus unseren Beobachtungen sich ergibt, keineswegs von dem Auftreten einer vorschriftsmässig angeordneten Reihe von Farben, sondern lediglich von dem Erscheinen einer ganz bestimmten Purpurfarbe abhängig, und diese für die Reaction entscheidende Färbung besitzt in keiner Weise die ihr von Adamkiewicz zugeschriebene Haltbarkeit, sondern sie ist regelmässig einem spectroscopisch gut verfolgbaren Wechsel unterworfen.

Die Adamkiewicz'sche Reaction lässt sich auf zweifache Weise ausführen; entweder man versetzt die zu prüfende Eiweisslösung mit Essigsäure und trägt dieses Gemisch in die concentrirte Schwefelsäure ein oder man mischt die beiden Säuren und lässt die Eiweisslösung tropfenweise zufliessen. Letzteres ist das von Adamkiewicz angegebene Verfahren; es verdient den Vorzug, wenn Gemenge auf veritabele Eiweissstoffe untersucht werden

1) A. Adamkiewicz, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. 3. 1875. S. 420.

sollen. Ersteres dagegen rührt von Hammarsten (vgl. S. 5) her und liefert durchgängig die zuverlässigsten Resultate, wenn es sich um eine einheitliche Substanz handelt. Die durch die Adamkiewicz'sche Probe indicirte Atomgruppe ist eben die labilste im ganzen Eiweissmolecüle, und je vollständiger dieser Atomcomplex gleich zu Anfang zersetzt wird, desto prägnanter tritt die Purpurfärbung auf. Durch eine verschiedene Ausführung der Probe erklärt sich auch der Differenzpunkt, welcher zwischen E. Salkowski und mir (vgl. S. 59) bezüglich der sogenannten Fleischpeptone besteht. Auf das Spectrum und die Farbe im Allgemeinen hat die Art, in welcher man die Reaction ausführt, sonst keinen Einfluss.

5. Die Cholestearinreactionen.

Ein durchgreifender methodischer Unterschied zwischen der reinen Chemie und der chemischen Physiologie liegt darin begründet, dass erstere einfachere Körper, deren chemische Constitution sicher ermittelt wurde, nach theoretischen Principien in complicirter zusammengesetzte überführt, während der chemischen Physiologie vorwiegend die Aufgabe zufällt, die complicirt zusammengefügten Molecüle der thierischen und pflanzlichen Stoffwechselproducte bis zu den chemisch charakterisirbaren Atomgruppen methodisch abzubauen. Dieser Unterschied liegt in der Natur der Sache selbst begründet und wird deshalb auch niemals sich verwischen lassen. Um sich bewusst zu bleiben, bis zu welchem Punkte diese chemischen Zergliederungsversuche der chemischen Physiologie gelungen sind, habe ich zwei verschiedene schematische Darstellungsweisen in Vorschlag gebracht. Erstens habe ich in leicht übersehbarer Form die Spaltungsproducte und die Synthesen der physiologisch wichtigeren und interessanteren Substanzen tabellarisch nach Reihen geordnet, und zweitens habe ich bei den complicirtest zusammengesetzten organischen Stoffwechselproducten, den Eiweisskörpern, das Molecül in Gestalt eines Modelles zur Anschauung gebracht, welches sich aus gerade so vielen mit einander verbundenen Scheiben zusammenfügt, als grundverschiedenartige Atomcomplexe, sei es durch die Reactionen, sei es durch die Spaltungsproducte, darin nachgewiesen sind. Letztere Methode liess sich bislang nur auf die Eiweissstoffe anwenden, denn charakteristische Farbenreactionen, welche in dieser Hinsicht die bedeutsamste Grundlage abgeben, sind für andere, in ihrem Molecül chemisch gewiss kaum einfacher beschaffene Substanzen noch nicht

in grösserer Anzahl bekannt geworden, und so liess sich eine Behandlung der Structurverhältnisse in dieser Form mit Aussicht auf Erfolg auch nicht weiter ausdehnen. Ein einziger Körper, krystallisirt und in reinem Zustande unschwer zu gewinnen, das Cholestearin nämlich, schränkt diesen Satz in seiner allgemeinen Gültigkeit jedoch ein wenig ein; denn beim Cholestearin sind kaum weniger Farbenreactionen wie bei den Eiweissstoffen als typische verzeichnet worden, und man hat auch bereits versucht, das Cholestearinmolecül auf Grund der einzelnen Farbenproben in ähnlicher Art chemisch zu zergliedern, als es bei den Eiweisssubstanzen mit so unerwartet günstigem Erfolge uns geglückt ist.

Das exacte chemische Wissen ist beim Cholestearin allerdings sehr gering geblieben, aber meist wird dasselbe doch geringer veranschlagt, als es thatsächlich ist. So sagt z. B. Maly[1]): „Man weiss nur aus einer Reihe gut krystallisirter und analysirter Derivate, dass das Cholestearin die Hydroxylgruppe und diese wahrscheinlich als Alkolylgruppe (CH_2OH) enthält, denn das OH ist sowohl durch Chlor (Cholestearinchlorür) als auch durch die Fettsäureradicale unter Bildung von verseifbaren Aethern ersetzbar.“ Ich lege weder einen Werth darauf, dass eine ganze Reihe von Cholestearinen, welche durch den Schmelzpunkt, durch die Krystallform und das Verhalten zu Reagentien von einander abweichen, doch insgemein die gleiche empirische Zusammensetzung zu besitzen scheinen, bekannt geworden sind, noch glaube ich, dass solange unter den Lipochromen nur die chemische Zusammensetzung des Carotins festgestellt ist, das Auftreten des Cholestearins als constantes Zersetzungsproduct der Lipochrome[2]) nähere Aufschlüsse über seine Constitution gestatten wird, aber die Bemühungen der letzten Jahre, eine Brücke von dem Cholestearin zu den Terpenen und der Cholalsäure zu schlagen, dürften doch nicht ganz unfruchtbare gewesen sein.

Auf eine Analogie, welche sich in den Eigenschaften des Cholestearins und seines Chlorides zu den entsprechenden Derivaten der Terpene geltend macht, wies bereits 1876 Latschinoff hin[3]).

---

1) R. Maly, Chemie der Verdauungssäfte und der Verdauung. Hermann's Handb. der Physiologie. Bd. 5. Th. 2. Leipzig. 1881. S. 153.

2) Cf. Krukenberg, Vgl. - physiol. Vorträge. Bd. 1. Heft 6. 1886. S. 400.

3) P. Latschinoff, Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 9. 1876. S. 1310 u. 1311.

Die Gründe, welche Latschinoff zu diesen Speculationen leiteten, „waren vor allem die Unmöglichkeit oder Schwierigkeit, gewöhnliche Homologe des Terpens oder des Kamphers darzustellen, und umgekehrt die Leichtigkeit, mit der Camphohomologe (d. s. die Glieder einer Reihe, welcher als Kern die Gruppe C_5H_8 zukommt), d. h. condensirte Terpene und ihre Derivate entstehen; alsdann eine gewisse Eigenthümlichkeit des chemischen Charakters und des Verhaltens der dieser Gruppe angehörenden Verbindungen, und endlich eine gewisse, freilich äusserst zweifelhafte Gesetzmässigkeit in den Siedepunkten der Camphohomologen.“ [1]) Nach den Untersuchungen von Walitzky [2]) erschien ihm „die Aehnlichkeit des Cholestearins mit dem sogenannten Hydrate des Terpens über jeden Zweifel erhoben, weshalb er statt der allgemein gebräuchlichen Formel $C_{26}H_{44}O$ die folgende, $(C_5H_8)_5H_2O$ vorschlug,“ und in derselben Weise sah er sich „genöthigt für die Cholsäure, welche in einer gewissen verwandtschaftlichen Beziehung zum Cholestearin steht, statt der allgemein gebräuchlichen Strecker'schen Formel $C_{24}H_{40}O_5$ die Mulder'sche $(C_{25}H_{40}O_5)_2 + \frac{1}{2}H_2O$ oder $[(C_5H_8)_5O_5] + \frac{1}{2}H_2O$, welche den Vorzug hat, dass sie den Zusammenhang der Cholsäure mit Cholestearin deutlich darstellt, zu wählen.“ Die bei der Oxydation der Cholsäure erhaltene Cholecamphersäure wie das bei der Oxydation des Cholestearins erhaltene Trioxycholestearin sprachen als Zersetzungsproducte, welche denen der einfachen Terpene, z. B. des Kamphers ähnlich sind, ebenfalls zu Gunsten der Latschinoff'schen Ansicht.

Th. Weyl [3]) setzte die Latschinoff'schen Arbeiten fort und fand, dass die Cholesterone und Cholesteriline Zwenger's (Cholestero-Terpene Weyl's) ihrer Zusammensetzung nach der Formel $(C_5H_8)_n$ entsprechen und auch sonst die allgemeinen Eigenschaften der Terpene zeigen. Weyl's Angaben gründen sich ausschliesslich auf die Ergebnisse von Dampfdichtebestimmungen, zugleich behauptet er aber, dass „für die chemische Verwandtschaft des Cholestearins und seiner Derivate mit den Terpenen und Camphern auch eine Anzahl von Farbenreactionen sprechen dürfte, die den genannten Stoffen gemeinsam sind.“ Unter dieser „Anzahl von Farbenreactionen“ ist nun aber allein die Schiff'sche Cholestearinprobe zu verstehen, welche bekanntlich darauf beruht,

1) P. Latschinoff, Ber. d. d. chem. Gesellsch. Bd. 12. 1879. S. 1526 ff.

2) W. E. Walitzky, ebenda Bd. 9. 1876. S. 1310.

3) Th. Weyl, Archiv f. Physiologie. 1886. S. 182—184.

dass Cholestearin mit einigen Tropfen Eisenchlorid + starker Salzsäure in einer Porzellanschale über freier Flamme abgedampft, erst eine röthliche, dann eine violette und schliesslich eine blaue Farbe annimmt. Diese Reaction sollen nach Weyl einerseits die Cholesteroterpene (α- und β-Cholesteron, α-Cholesterilen), andererseits Terpentinöl (Sdp. 154—156°), Kampher und reinste Cholalsäure zeigen. Was jedoch die Schiff'sche Cholestearinprobe als solche anbelangt, so kann dieselbe unmöglich als eine der charakteristischsten und empfindlichsten bezeichnet werden, und wie wenig genau bekannt dieselbe überhaupt noch ist, geht gewiss aus nichts schlagender hervor als aus den sich widersprechenden Angaben der gebräuchlichen Lehrbücher über die bei der Probe auftretenden Farbentöne. Diese Widersprüche erscheinen allerdings noch bedeutsamer als sie es thatsächlich sind, und dürften in folgender Weise leicht verständlich werden.

Je nachdem man von der Eisenchloridfärbung abstrahirt oder nicht, ist die Färbung der rückständigen Partikelchen bei der Reaction zuerst röthlich, orange oder chamois. Dann tritt ein Stadium ein, in welchem die Farbe unzweifelhaft ein helles Grün ist, und dieses wechselt späterhin, je nachdem die Färbung mehr oberflächlich bleibt oder mehr in die Tiefe dringt, zwischen Blaugrün und einem reinern Blau, welches bisweilen auch den Eindruck eines satten Blauviolett hervorruft. Noch mehr müssen natürlich die Farbennuancen variiren, wenn die Substanz bei der Probe nicht fest bleibt, wie z. B. das Cholestearin, sondern (wie die Terpene) schmilzt. Die ganze Reaction besteht eigentlich nur in einem Umschlag der Farbe in's Rothe und in dem spätern Auftreten eines mehr oder minder intensiv blaugrünen Farbentones, dessen zwar, so unglaublich es auch erscheinen mag, von mehreren Forschern (z. B. von Hoppe-Seyler und Maly) mit keiner Sylbe Erwähnung geschieht. Halten wir indess als die beiden wesentlichen Momente bei der Schiff'schen Probe erstens den Umschlag der Farbe in's Rothe und zweitens den Uebergang des röthlichen Tones in Grün aufrecht, so ist gegen die Angabe von Weyl, dass Kampher und Cholalsäure die Reaction gleichfalls zeigen, auch nicht das Mindeste einzuwenden. Kampher, Borneol, Menthol[1]) und reinste Cholalsäure — welche letz-

1) Die zu den Versuchen benutzten Kampherarten, das Terpinhydrat und das Eugenol wurden in vorzüglicher Reinheit von der H. Trommsdorff'schen Fabrik in Erfurt geliefert und liessen jede weitere Reinigung als überflüssig erscheinen.

tere fein zerrieben und mit Chloroform oftmals ausgeschüttelt, bei Ausführung der Salkowski'schen Cholestearinreaction keine Spur von Röthung dem Chloroform ertheilt — passiren bei der Schiff'schen Probe genau die nämliche Farbenreihe als das Cholestearin. Allemal tritt das Grün am deutlichsten hervor, in einem weitern Stadium färben sich die Kamphertropfen bei einigen Proben auch in auffälligerem Maasse rein blau, die Cholalsäure intensiv blaugrün, während Menthol und Borneol (was in geringerem Grade aber auch bei Anwendung reinsten Cholestearins geschieht!) bei längerem und stärkerem Erwärmen dabei leicht eine tief dunkelviolette Farbe annehmen. Von den beiden Substanzen, dem Eugenol und dem Terpinhydrat, auf welche wir bei den übrigen Cholestearinreactionen besondere Rücksicht zu nehmen haben, färbt sich ersteres mit Eisenchlorid azurblau und bildet dann beim Abdampfen mit Salzsäure Schlieren von unansehnlich brauner Farbe, letzteres durchläuft dabei die Farbenreihe von Roth durch Grün zum Blau zwar wie das Cholestearin, aber die Farben treten am Terpinhydrat ungleich prächtiger auf und gestatten deshalb wahrscheinlich garkeinen Vergleich mit denen, welche am Cholestearin zur Beobachtung gelangen.

Wenn wie in diesen Fällen, die bei einer Reaction auftretenden Farben keiner näheren Analyse zugängig und vor allem charakteristische Lichtabsorptionen nicht festzustellen sind, bleiben Zweifel an der Identität äusserlich selbst auffallend ähnlich gefärbter Zersetzungsproducte keineswegs ausgeschlossen. Schon aus diesem Grunde schien es mir dringend geboten, die übrigen Cholestearinreactionen an der Cholalsäure und den Kampherarten mitzuversuchen.

Zum Nachweise des Cholestearins benutzt man unter anderem das Verhalten, beim Abrauchen mit starker Salpetersäure einen citronengelben Nitrokörper zurückzulassen, der warm mit Ammoniak [1]) befeuchtet, blutroth wird. Diese Reaction ist indess noch

1) Gewöhnlich wird der Leser darüber im Ungewissen gelassen, wie sich der Salpetersäureverdampfungsrückstand gegen Natronlauge verhält. K. B. Hofmann (Lehrb. d. Zoochemie. Heft 2. Wien. 1877. S. 229) gibt an, dass „der gelbe Fleck auf Zusatz von Natronlauge, zum Unterschied von der Murexidprobe, nicht wesentlich geändert wird." Diese Angabe ist jedoch unrichtig. Natronlauge ruft an dem Rückstande ganz die gleiche Farbenveränderung als Ammoniak hervor, nur erfolgt bei Anwendung einer schwächeren Lauge die Verfärbung etwas langsamer als durch Salmiakgeist; reine Cholalsäure verhält sich in letzterer Beziehung ebenso wie das Cholestearin.

weniger charakteristisch als die Schiff'sche Probe; unzählige organische Körper gehen bei diesen Proceduren sehr ähnliche Farbenveränderungen wie das Cholestearin ein. Uns interessirt hier ausschliesslich, wie sich die Kampherarten, das Terpinhydrat, die Cholalsäure und das Eugenol bei dieser Reaction verhalten.

Die Kampherarten (Kampher, Borneol, Menthol) hinterlassen beim Abdampfen mit Salpetersäure ebenso wie das Cholestearin einen gelben Rückstand, und vor allem der Laurineenkampher gleicht dem Cholestearin noch darin, dass er während des Abrauchens mit der Säure sich vorübergehend zeisiggrün färbt. Werden alsdann die gelben Verdampfungsrückstände mit Ammoniak oder mit Natronlauge warm befeuchtet, so schlägt (ähnlich wie bei der Xanthoproteïnsäure) die Farbe allemal in ein unansehnliches Gelbbraun um, und es kommt niemals zu dem Blutroth der Cholestearinprobe. Die blutrothe Färbung tritt lediglich bei Ausführung der Reaction mit reiner Cholalsäure ebenso prägnant als am Cholestearin hervor, wennschon der Verdampfungsrückstand, den die Cholalsäure nach dem Abrauchen mit Salpetersäure lässt, nur sehr schwach gelb gefärbt ist. Eugenol liefert mit Salpetersäure unter energischer Entwicklung von Stickstoffbioxyd ein braungelbes Zersetzungsproduct, während Terpinhydrat bei der Probe denselben Wandel brillanter Färbungen eingeht als beim Abrauchen mit Eisenchlorid und Salzsäure.

Einige andere Cholestearinnachweise gründen sich auf das Verhalten des Cholestearins zu Schwefelsäure. Die speciellen Färbungen, welche das Cholestearin unter der Einwirkung dieser Säure annimmt, sind durch mehrere Nebenumstände complicirt und somit auch verschiedene Verfahren in Vorschlag gebracht, bei welchen das Entstehen charakteristischer Färbungen besonders begünstigt ist. So sagt K. B. Hofmann (a. a. O., S. 228): „Durch concentrirte Schwefelsäure wird Cholestearin in der Kälte in eine rothe Masse verwandelt, die bei Wasserzusatz grün wird.“ In dieser Form lässt die Reaction am meisten zu wünschen übrig, und versucht man sie in dieser Weise an den Kampherarten oder an dem Terpinhydrat, so bleibt das Resultat ein negatives; man sieht die Substanzen sich in der concentrirten Schwefelsäure mit gelber bis rothbrauner Farbe lösen und beim Verdünnen mit Wasser harzartige, fast ungefärbte Ausscheidungen entstehen, welche die Flüssigkeit milchig trüben.

Besser ist eine Methode, welche ihrem Principe nach von J. Moleschott herrührt. Erwärmt man Cholestearin mit einer

Mischung von 5 Th. Schwefelsäure und 1 Th. Wasser, so wird es kirschroth, beim Uebergiessen mit 4 oder 3 Th. Schwefelsäure: 1 Th. Wasser ohne Erwärmen violett, bei 2 : 1 lila. Die nachstehende Tabelle resumirt die Resultate, zu welchen ich beim Einschlagen dieses Verfahrens an verschiedenen Substanzen, besonders den Kampherarten, gelangt bin.

	Erwärmen mit $5SO_4H_2 : 1H_2O$	4 od. $3SO_4H_2 : 1H_2O$ ohne Erwärmen	$2SO_4H_2 : 1H_2O$ ohne Erwärmen
Cholestearin	purpurroth; allmälig mit purpurvioletter Farbe in Lösung gehend	purpurviolett	lila
Cholalsäure	blutrothe Flüssigkeit mit intensiv grüner Fluorescenz	langsam sich zeisiggrün färbend u. alsdaun zu einer gelben, grün fluorescirenden Flüssigkeit sich lösend	lange unverändert bleibend
Kampher	orangerothe Lösung, die später einen Purpurton erhält	mehr oder weniger stark orange und allmälig in Purpur übergehend	
Borneol	Lösung anfangs orangegelb, später blutroth und schliesslich unansehnlich gelbbraun	gelb u. zu einer trüben gelblichen Flüssigkeit sich lösend	allmälig sich bräunlich färbend
Menthol	trübe orangefarbigeLösung, beim Erwärmen blutroth werdend u. eine purpurfarbige Masse ausscheidend	langsam zu einer schwach bräunlichgelben Flüssigkeit sich lösend	sich äusserst langsam schwach bräunlich färbend
Terpinhydrat	blutrothe Lösung mit einem Stich in's Purpurfarb.	sich orange färbend und eine chamoisfarbene Lösung gebend	
Eugenol	prächtig kirschrothe Lösung	durch unansehnlich grünliche u. bräunliche Tinten allmälig in eine schön kirschroth gefärbte Flüssigkeit übergehend.	

Die bemerkenswerthesten Punkte in der Tabelle sind gewiss die Auflösung der Cholalsäure in der Schwefelsäure zu einer rein gelben resp. blutrothen, stark grün fluorescirenden Flüssigkeit und die purpurnen resp. violetten Farbentöne, welche die Terpene der Säure ertheilen. Was die Auflösung der Cholalsäure in der con-

centrirten Schwefelsäure betrifft, so sei bemerkt, dass diese Erscheinung sowohl an sämmtlichen damals bekannten Gallensäuren wie auch an Cholaten zuerst von Frerichs und Staedeler[1]) studirt wurde, dass aber die so sehr in die Augen fallende richtige Fluoresceïn- oder Uranglasfärbung, welche die Schwefelsäure beim Verreiben mit Cholalsäure resp. deren Derivaten annimmt, wenig beachtet wurde. Frerichs und Staedeler nannten die Farbe sehr unzutreffend „saffrangelb", und diese Bezeichnung ist überall wiederzufinden.

Was die Purpurfarbstoffe bei Ausführung der Reaction an den Kampherarten und dem Terpinhydrat anbelangt, so entstehen dieselben sowohl, wenn die Schwefelsäure warm als auch wenn dieselbe kalt einwirkt; nach der Einwirkung von kalter concentrirter Schwefelsäure begegnet man den purpurfarbenen Zersetzungsproducten ebenfalls. Die Purpurfarbstoffe stimmen, einerlei ob sie aus dem Borneol, dem Menthol, dem Terpinhydrat oder aus dem Laurineenkampher dargestellt wurden, in mehreren Reactionen vollkommen überein. Sie lassen sich der Schwefelsäure durch Ausschütteln mit Chloroform theilweise entziehen, bedürfen aber zu ihrer Existenz eines hohen Säuregrades; ein Ausgiessen des purpurnen Chloroformauszuges in ein mit Chloroform benetztes Reagenzglas genügt gewöhnlich schon, eine vollständige Entfärbung herbeizuführen. So entfärbte Chloroformlösungen regeneriren den Farbstoff sofort, wenn sie mit Schwefelsäure geschüttelt werden.

Mit den purpurfarbigen Zersetzungsproducten, in welche das Cholestearin durch die Einwirkung concentrirter Schwefelsäure übergeht, und welche — wie bei Anstellung der Probe nach Salkowski's Vorschrift am besten wahrzunehmen ist — von Chloroform sehr leicht aufgenommen werden, aber erst allmälig aus einem reiner rothen Pigmente entstehen, sind die aus den Terpenen in der angegebenen Weise zu erhaltenden Purpurfarbstoffe keineswegs zu identificiren. Das zeigt sich z. B., wenn man das Spectrum des Chloroformauszuges von der Salkowski'schen Cholestearinprobe (ausgeführt an reinem Cholestearin) mit dem des Chloroformauszuges derselben Probe (ausgeführt an einem der genannten Terpene) zusammen vergleicht. Bei Anwendung von Cholestearin erkennt man, solange die Chloroformlösung sich noch eine mehr blutrothe Farbe bewahrt hat, ein breites Absorptions-

1) Fr. Th. Frerichs und G. Staedeler, Müller's Arch. f. Anat., Physiol. etc. 1856. S. 55—61.

band zwischen *C* und *D* (Spectr. 11 unserer Tafel), daneben aber kein anderes; in einem zweiten Stadium tritt eine ziemlich gleichmässige Verdunkelung des Spectrums von *C* bis *F* ein, und schliesslich, wenn die Chloroformlösung amethystfarben geworden ist, hellt sich ein breiter Raum rechts wie links von der *E*-Linie bedeutend auf, indem auf dieser Strecke nur dicht vor *E* eine schwache Beschattung zurückbleibt (Spectr. 12)[1]). Ganz anders gestaltet sich das spectroscopische Bild, wenn wir einen Chloroformauszug beobachten, welcher von einer Probe genommen ist, die genau nach Salkowski's Vorschrift statt an Cholestearin, an Menthol, Borneol, Kampher oder Terpinhydrat zur Ausführung gelangte. Ein solcher ist entweder violett oder reiner purpurn, chamois gefärbt, enthält jedenfalls nicht allemal ein und dasselbe Pigment, sondern derselbe kann auch Lösungen von ganz verschiedenartigen oder eines Gemisches von zwei, ja selbst von drei differenten Farbstoffen darstellen.

Ist der Chloroformauszug violett gefärbt, so weist derselbe constant ein breites Spectralband auf, welches ungefähr bei *F* beginnt, und ausserdem ein zweites zwischen *D* und *E* (Spectr. 22); nur bei Anwendung von Terpinhydrat wurde von mir neben diesen beiden Bändern noch ein dunkler Streifen bei *C* bemerkt (Spectrum 13). Wenn dagegen der Chloroformauszug eine mehr purpurrothe Färbung darbietet, so fehlen die Bänder, welche den violetten Chloroformauszügen eigen sind, in der Regel ganz, und das Spectrum (21 u. 23) zeigt nur ein, etwa 10 Theilstriche unserer Scala bedeckendes dunkles Absorptionsband, welches unmittelbar bei *b* einzusetzen pflegt, doch in seiner Lage etwas variirt. Beide so spectroscopisch gut gekennzeichneten Farbstoffe stehen sicherlich unter einander in einem einfachen genetischen Zusammenhange. Ich habe jeden einzelnen der beiden Farbstoffkörper sowohl bei Ausführung der Reaction nach der Angabe von Moleschott als auch nach der Vorschrift von Salkowski aus allen genannten Terpenen (Kampher, Borneol, Menthol, Terpinhydrat) durch Behandlung der Proben mit Chloroform isolirt erhalten, und lediglich das, der stark gefärbten Nebenproducte wegen schwer erkennbare

1) Vergleicht man diese Beschreibung mit derjenigen, welche A. Adamkiewicz (Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. 3. 1875. S. 420) von dem spectroscopischen Wechsel des Chloroformauszuges der Salkowski'schen Reaction, an Cholestearin ausgeführt, entworfen hat, so überzeugt man sich leicht, dass derselbe wieder einmal nur die Schlussphasen der Reaction zu sehen bekam.

Erscheinen der Farbstoffe bei der Reaction, ihre geringe Löslichkeit in Chloroform und die Vergänglichkeit ihrer Lösungen verbieten, eine sichere Entscheidung darüber abzugeben, ob, wie es allen Anschein hat, der purpurne Farbstoffkörper eine Vorstufe des violetten ist. Gerade die Vergänglichkeit der Lösungen zeichnet diese Farbstoffe gegenüber denen, welche bei Ausführung der Salkowski'schen Probe am Cholestearin in Chloroform übergehen, in unliebsamer Weise aus. Giesst man den Chloroformauszug von der Cholestearinprobe in eine flache Porzellanschale aus, so färbt sich derselbe beim Verdunsten bald blau, grün und endlich gelb; die violetten und purpurfarbigen Chloroformauszüge von der Terpenprobe verblassen dagegen unter diesen Umständen sehr rasch, und es scheiden sich dabei unansehnlich gefärbte Flocken aus.

Ich führe hier noch einige Erscheinungen auf, welche bei Ausführung der Salkowski'schen Reaction, sei es am Cholestearin, sei es an den Terpenen, zur Beobachtung gelangen, und welche nicht wohl übergangen werden können. Beim Cholestearin zeigt die Schwefelsäure unter der Chloroformlösung bekanntlich eine ausgesprochen grüne Fluorescenz, und diese erhält sich, wenn die Schwefelsäure, mit Eisessig verdünnt, eine purpurrothe oder Rosa-Färbung annimmt. Die Farbenunterschiede, welche man je nach der Menge des zugesetzten Eisessigs beobachtet, sind rein quantitativer Art; solche Flüssigkeiten besitzen spectroscopisch wenig Typisches, nur eine gleichmässig stärkere Absorption der grünen Strahlen wird bei scharfer Einstellung des Spectrums und günstiger Schichtendicke wahrgenommen, und die Behauptung von K. B. Hofmann (a. a. O., S. 229), dass die Spectraleigenschaften dieser Lösungen mit denen der Pettenkofer'schen Gallensäureprobe[1]) übereinstimmen, ist demnach vollständig aus der Luft

1) Zur Vervollständigung des S. 15 Anm. 1 Gesagten sei hier bemerkt, dass, wenn bei Ausführung der von Pettenkofer für den Nachweis der Gallensäuren geschaffenen Reaction an reiner Oelsäure genau nach der Vorschrift M. S. Schultze's (Ann. d. Chem. und Pharm. Bd. 71. 1849, S. 270) verfahren wird, eine tiefpurpurrothe Flüssigkeit resultirt, die von dem ersten Stadium einer echten Pettenkofer'schen Gallensäureprobe nicht zu unterscheiden ist. Das Spectrum der Oelsäurereaction (Spectr. 20) zeigt in diesem Falle nur ein breites Band vor *E*, verhält sich also auch in dieser Beziehung genau so wie die Pettenkofer'sche Gallensäurereaction. Während letztere aber bald ein ganz anderes Spectralverhalten darbietet, zeigen sich Spectrum und Farbe der Oelsäureprobe noch nach vielen Tagen ganz unverändert. Aus dem allgemeinen Verhalten der Cholate gegenüber

gegriffen. Bei Ausführung der Reaction an den Terpenen liess sich ausschliesslich am Menthol eine grüne Fluorescenz erkennen, welche aber in diesem Falle der Chloroformlösung im gleichen Maasse als der unterstehenden Schwefelsäureschicht zukam.

Eine Uebereinstimmung zwischen dem Cholestearin und den Terpenen bei der Salkowski'schen Reaction besteht darin, dass das Chloroform keine Vertretung durch andere Flüssigkeiten gestattet, welche auf viele Substanzen (z. B. auf die Lipochrome) gleich ihm lösend einwirken. Selbst eine Substitution des Chloroforms durch Amylalkohol, welcher doch so viele, in Chloroform ebenfalls leicht lösliche Farbstoffe aus anderen Flüssigkeiten an sich reisst, führt zu keinem Ziele; man erhält nur roth- oder gelbbraune Farbentöne. Es documentirt sich hierin ein Unterschied gegenüber dem Eugenol (Eugensäure), welches — obgleich es ein verhältnissmässig einfach gefügter Aether eines ungesättigten Phenols ist und durch die Eisenchloridreaction sich dem Phenol und dessen nächsten Abkömmlingen unmittelbar anschliesst — durch den purpurrothen Farbstoff, welchen es bei Ausführung der Salkowski'schen Probe an Chloroform abgibt, sowie aus einigen anderen Gründen mehr, von mir in den Kreis dieser Untersuchungen mithineingezogen wurde. Das intensiv gefärbte Product, welches die Schwefelsäure aus dem Eugenol hervorgehen lässt, ist eine in sauren Lösungen sehr beständige Substanz, welche sich in Amylalkohol und Essigäther noch besser als in Chloroform löst, wenig löslich in Wasser wie Glycerin und sehr schwer oder unlöslich in Aether, Benzol sowie in Petroläther ist. Das spectroscopische Verhalten dieses Eugenolfarbstoffes ist in Spectr. 14 für die Amylalkohollösung, in Spectr. 15 für die Essigätherlösung dargestellt. Diese Lichtabsorptionen liessen in der Purpurlösung, welche bei der Salkowski'schen Reaction aus den Terpenen erhalten wird, die Anwesenheit zweier Farbstoffe vermuthen; fortgesetzte Untersuchungen lehrten indess, dass die das Spectrum dieser Farbstofflösungen charakterisirenden beiden Bänder ausnahmslos in sämmtlichen Proben gesehen werden und demnach doch wohl einem einheitlichen Körper entsprechen dürften. Nur insofern bietet der Eugenolpurpur ein ähnliches Verhalten wie die Terpen-

---

der Schwefelsäure muss geschlossen werden, dass die ebenfalls erst in einem spätern Stadium hervortretende grüne Fluorescenzfarbe nur eine Begleiterscheinung bei der Pettenkofer'schen Reaction ist; unter Umständen treten auch bei der an Oelsäure ausgeführten Probe ähnliche Fluorescenzerscheinungen auf.

farbstoffe dar, als auch seine chloroformige Lösung, in eine Porzellanschale ausgegossen, bald verblasst, ohne beim Verdunsten des Chloroforms einen prägnanteren Farbenwechsel einzugehen, und als auch der Eugenolpurpur nach dem Verdünnen der Chloroformlösung grösstentheils zerstört, beim Schütteln des entfärbten Chloroformauszuges mit Schwefelsäure aber aus dem entstandenen Chromogene regenerirt wird.

Versucht man die Salkowski'sche Reaction mit reiner Cholalsäure zu erhalten, so färbt sich die Schwefelsäure roth, das Chloroform bleibt aber lange farblos und erst spät färbt es sich gelblich. Verdünnt man darauf die unterstehende Schwefelsäureschicht mit Wasser, so scheidet sich häufig (sicherer nach Rohrzuckerzusatz) jene von Frerichs und Staedeler (a. a. O.) zuerst beobachtete, meist gelbgrün, oft aber auch satt smaragdgrün gefärbte Materie in öligen Tropfen aus, die in Alkohol wie Chloroform mit gelbgrüner, bisweilen auch mit dunkelgrüner Farbe übergeht. In diesem Farbstoffe, welcher nach Neutralisation der Schwefelsäure durch Baryumcarbonat von Alkohol mit einer, aber immerhin unansehnlicheren grüngelben Farbe aufgenommen wird, vermutheten Frerichs und Staedeler einen mit dem Biliverdin identischen Körper; doch ist dieser Irrthum von Staedeler[1]) später selbst berichtigt. Gleich den gelben resp. rothen, grün fluorescirenden Lösungen der Cholalsäure in Schwefelsäure weisen diese grünen alkoholischen oder Chloroformlösungen keine irgendwie circumscript begrenzte Absorption im Spectrum auf, wie denn überhaupt jeglicher Grund fehlt, bei der Einwirkung von Schwefel-

---

1) G. Staedeler, Ann. d. Chem. und Pharm. Bd. 132. 1864. S. 350—352. — Ist wegen des Stickstoffgehaltes des Biliverdins eine Identität desselben mit dem grünen Cholalsäurederivate auch von vornherein ausgeschlossen, so bleibt doch noch die Möglichkeit bestehen, dass beide Pigmente ihre einander so ähnliche Färbung ein und derselben chromophoren Gruppe verdanken. Frerichs u. Staedeler (a. a. O., S. 59) wollen in der That aus dem blassgrünen Cholalsäurefarbstoffe durch gelindes Erwärmen intensiv grüne, blaue und violette Producte erhalten haben, deren braun gefärbte alkalische Lösungen „in ihrem Verhalten gegen Salpetersäure nicht von einer alkalischen Gallenpigmentlösung abwichen." Ich vermag jedoch diese Angabe nicht zu bestätigen. Dunkelgrün gefärbte alkoholische Lösungen des Cholalsäurederivates gingen mit salpetriger Salpetersäure den für die Gmelin'sche Gallenfarbstoffreaction typischen Farbenwandel niemals ein, sondern änderten ihre Farbe ohne wahrnehmbares Violett und Rosa von Grün durch Blau in Braungelb um.

säure auf Cholalsäure gleiche oder chemisch verwandte Farbstoffe denen anzunehmen, welche aus dem Cholestearin oder den Terpenen nach der Moleschott'schen oder der Salkowski'schen Methode gewonnen werden.

Virchow hat die Schwefelsäurereaction des Cholestearins in der Weise umgestaltet, dass er zu den, auf einem Objectträger ausgebreiteten und mit einem Deckgläschen lose bedeckten Cholestearinkrystallen unter dem Microscope von der einen Seite concentrirte Schwefelsäure oder besser eine Mischung von 5 Th. Schwefelsäure: 1 Th. Wasser, von der andern Seite einen Tropfen Jodtinctur treten lässt. An den Berührungsstellen beider Flüssigkeiten färbt sich das Cholestearin tief blutroth, und diese Farbe geht bald in Violett, Gelbgrün, Grün und Blau über. Einen ähnlichen Farbenumschlag bekommt man bei Ausführung der Probe an den Terpenen nicht zu sehen. Kampher färbt sich bei Behandlung mit Jod und Schwefelsäure gelb resp. rothbraun, Terpinhydrat grünlichgelb resp. braunroth, Menthol grünlichgelb resp. rothbraun und Borneol bläulichgrün resp. gelbbraun, indem die gelben oder grünlichen Farbentöne bei vorherrschender Jodwirkung, die braunen in Folge eines stärkeren Angreifens der Schwefelsäure auftreten, und beide Farbenreihen auch in jedem Mischungsverhältnisse zu beobachten sind. Hingegen macht völlig cholestearinfreie Cholalsäure bei der Reaction einen sehr ähnlichen Farbenwechsel wie das Cholestearin durch; dieselbe färbt sich blau, grün, später roth, schliesslich gelb und braun.

Nach allen bisherigen Erfahrungen müssen wir die Salkowski'sche Cholestearinreaction als die für diesen Körper charakteristischste bezeichnen; vorausgesetzt dass die Angabe von Hoppe-Seyler[1]) richtig ist, tritt dieselbe am Isocholestearin schon nicht mehr auf, und wir können mit Bestimmtheit versichern, dass weder die Kampherarten und das Terpinhydrat, noch die Cholalsäure nebst ihren Derivaten dieselbe eingehen. Die Salkowski'sche Reaction gestattet durch ihr typisches Spectralverhalten eine weit exactere Analyse als irgend eine der anderen Cholestearinproben; diese sind jeder spectroscopischen Verfeinerung unzugängig geblieben und lassen deshalb auch vielfache Zweifel darüber bestehen, ob die ähnlich gefärbten Producte, welche an anderen Stoffen unter den nämlichen Verhältnissen zur Beobach-

1) F. Hoppe-Seyler, Handb. d. physiol.- u. path. chem. Analyse. 5 Aufl. Berlin. 1883. S. 226.

tung gelangen, wirklich die gleichen chemischen Körper als bei den entsprechenden Cholestearinproben sind. Wir bleiben so völlig im Ungewissen, ob die Cholalsäure mit dem Cholestearin die Virchow'sche Probe gemeinsam hat, ob die Terpene und Kampherarten mit der Cholalsäure und dem Cholestearin die Schiff'sche Reaction theilen. Um hier Klarheit zu gewinnen, wird es erst noch der Prüfung zahlreicher verwandter Substanzen bedürfen, und als besonders geeignet für derartige vergleichende Untersuchungen glaube ich einige der sogenannten Bitterstoffe bezeichnen zu dürfen. Erst wenn wir in dieser Richtung weiter vorgeschritten sein werden, lässt sich auch die Frage erörtern, welches die für das Cholestearin specifischen chromophoren Gruppen sind; bei dem gegenwärtigen Stande der Dinge kann hierüber noch nichts Zuverlässiges berichtet werden.

Jena, Ende Juni 1886.

Erklärung der Spectraltafel.

(Die punktirt gehaltenen Linien zeigen die Lichtabsorptionen im Spectrum concentrirterer Lösungen.)

1—4 stellen die Spectren der Ehrlich'schen Bilirubinreaction dar.

1. Saure blaue Lösung.
2. Annähernd neutrale violette Lösung.
3. Neutrale gelbe Lösung.
4. Stark alkalische grüne Lösung.

5. Salzsaurer ätherischer Auszug von Rindergalle, aus welcher die Glykocholsäure nach der modificirten Hüfner'schen Methode ausgefällt wurde.

6. Diabetischer Harn nach Ausführung der Indicanprobe (mittelst Chlorkalk und conc. Salzsäure) mit Chloroform ausgeschüttelt,

7—9. Adamkiewicz'sche Reaction an Eieralbumin.

10. Biuretprobe mit reinem Harnstoff ausgeführt.

11 und 12. Cholestearin in Chloroform gelöst und mit concentrirter Schwefelsäure versetzt.

11. Erstes Stadium der Reaction. Purpurrothe Chloroformlösung.
12. Endstadium der Reaction. Amethystfarbige Chloroformlösung.

13. Terpinhydrat in Chloroform gelöst, mit conc. Schwefelsäure und Wasser versetzt.

14. Eugenol ebenso behandelt, nachträglich aber mit Amylalkohol extrahirt. Prachtvoll violette Lösung.

15. Die Eugenolprobe (14) in Essigäther gelöst. Tief violette Flüssigkeit.

16. Cyanwasserstoffoxyhämoglobin, erhalten durch Mischen von Blutwasser mit wässriger Blausäurelösung und Beseitigung der diffundibelen Beimengungen durch Dialyse. Zum Vergleiche ist das Band des reducirten Hämoglobins mitgezeichnet und durch eine Schraffirung von links nach rechts unterscheidbar gemacht.

17. Blutwasser mit wenig Kairin versetzt und die Mischung ausdialysirt.

18. Wenig Thallintartrat in Blutwasser gelöst und durch Dialyse gereinigt.

19. Blutwasser mit reiner Salzsäure angesäuert und, ohne erwärmt zu sein, nach 24stündigem Stehen ausdialysirt. Braunrothe Lösung von durchaus neutraler Reaction.

Wie das spectroscopische Verhalten der nachträglich durch Salzsäure wiederum sauer resp. durch Natronlauge alkalisch gemachten Probe bekundet, gehört Band 1 dem Hämatin, Band 2, 3 und 4 dem Hämatoporphyrin an. Dieses Spectrum ist deshalb so lehrreich, weil sich in ihm das characteristische erste Absorptionsband des Säurehämatins zwar der *D*-Linie zu beträchtlich verschoben zeigt, aber noch keineswegs die Lage des alkalischen Hämatinstreifens erreicht hat. Zum Unterschiede hiervon bieten saure Hämatoporphyrinlösungen, wenn sie auf dialytischem Wege vollkommen entsäuert sind, trotz der neutralen Reaction die Spectraleigenthümlichkeiten einer ammoniakalischen Hämatoporphyrinlösung dar. Schliesslich sei auch mitgetheilt, dass die Flüssigkeit, von welcher Spectr. 19 entworfen ist, auf Natronzusatz klar bleibt, durch Salzsäure aber wegen des sich fast vollständig ausscheidenden Hämatoporphyrins trübe wird; letzteres lässt sich von der sauren Hämatinlösung durch Filtration leicht trennen und mit siedendem Alkohol alsdann in Lösung überführen.

20. Oelsäure mit der gleichen Menge concentrirter Schwefelsäure verrieben, mit wenig Zucker gemischt und mit conc. Schwefelsäure aufgefüllt. Purpurrothe Flüssigkeit. Das Spectrum erwies sich noch nach zehntägiger Aufbewahrung der Lösung als unverändert.

21. Kampher in 5 Th. Schwefelsäure + 1 Th. Wasser gelöst und längere Zeit gelinde erwärmt.

22. Chloroformlösung der violetten Flocken, welche sich beim Erwärmen von Menthol mit der nämlichen Mischung wie unter 21 ausgeschieden hatten.

23. Chloroformauszug einer in gleicher Weise mit Terpinhydrat angestellten Probe.

Frommann'sche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena.

2

3

4

5.

6.

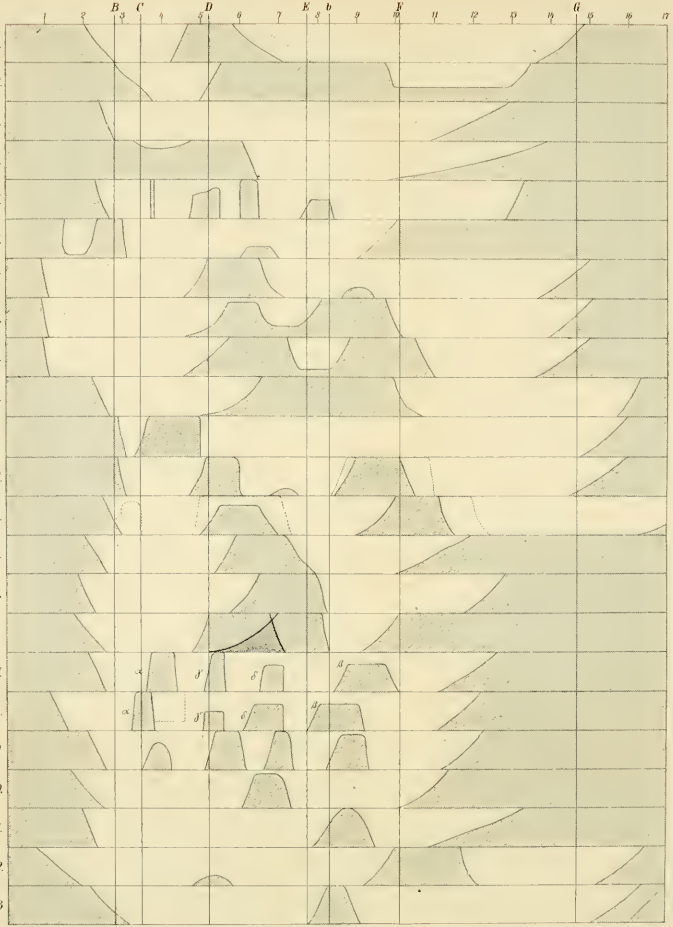
7.

8.

9.

10.

11



Krukenberg fec

Verl v Gustav Fischer i Jena

Lith Anst v A Giltsch, Jena

COLUMBIA UNIVERSITY LIBRARIES

This book is due on the date indicated below, or at the expiration of a definite period after the date of borrowing, as provided by the rules of the Library or by special arrangement with the Librarian in charge.

DATE BORROWED	DATE DUE	DATE BORROWED	DATE DUE
	Sept 15		
C28(1141)M100			

QP514 K932

Krukenberg